FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNEE 1930

23

# THÈSE

présentée pour le Doctorat en médecine

PAR

**WEILL JOSEPH**

né à BOUXVILLER (Bas-Rhin) le 3 juillet 1902

Ancien Interne des Hôpitaux
Chef de Clinique Médicale

# Les Modifications des Protéines du Sérum en Pathologie

*Président:* M. G. SCHAEFFER, Professeur

Travail du Laboratoire du Professeur LÉON BLUM
(Clinique Médicale B)

1930
IMPRIMERIE FRANÇAISE
5, place du Corbeau

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNEE 1930

23

# THÈSE

présentée pour le Doctorat en médecine

PAR

**WEILL JOSEPH**

né à BOUXVILLER (Bas-Rhin) le 3 juillet 1902

Ancien Interne des Hôpitaux
Chef de Clinique Médicale

# Les Modifications des Protéines du Sérum en Pathologie

*Président:* M. G. SCHAEFFER, Professeur

Travail du Laboratoire du Professeur LÉON BLUM
(Clinique Médicale B)

1930
IMPRIMERIE FRANÇAISE
5, place du Corbeau

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

# FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG.

| | |
|---|---|
| *Doyen* . . . . . | MM. ANCEL ✻ ⚜ I. |
| *Assesseur* . . . . . | MERKLEN ✻ ⚜ I. |

*Professeurs :*

| | |
|---|---|
| Embryologie . . . . . | MM. ANCEL ✻ ⚜ I. |
| Anatomie . . . . . | FORSTER ✻ ⚜ I. |
| Histologie . . . . . | BOUIN O. ✻ ⚜ I. |
| Physiologie . . . . . | SCHAEFFER ⚜ I. |
| Physique biologique . . . . | VLES ✻ ⚜ I. |
| Chimie biologique . . . . . | NICLOUX ✻ ⚜ I. |
| Anatomie pathologique . . . . | MASSON ✻ ⚜ I. |
| Pharmacologie, Médecine expérimentale . . . . . | AMBARD ✻ ⚜ I. |
| Hygiène, Bactériologie . . . . | BORREL C. ✻ ⚜ A. |
| Médecine légale . . . . . | CHAVIGNY C. ✻ ⚜ I. |
| Clinique médicale . . . . . | MERKLEN ✻ ⚜ I.<br>N.... |
| Clinique chirurgicale . . . . | LERICHE O. ✻ ⚜ I.<br>STOLZ ✻ ⚜ I. |
| Clinique ophtalmologique . . . . | WEILL ⚜ I. |
| Clinique dermatologique . . . . | PAUTRIER O. ✻ ⚜ I. |
| Clinique psychiatrique . . . . . | PFERSDORFF ✻ ⚜ I. |
| Clinique neurologique . . . . . | BARRÉ ✻ ⚜ I. |
| Clinique gynécologique et accouchements . . . . . | REEB ⚜ A. |
| Clinique infantile . . . . . | ROHMER ✻ ⚜ I. |
| Clinique oto-rhino laryngologique . | CANUYT ⚜ A. |

*Professeurs sans chaire :*

| | |
|---|---|
| MM. ARON Max ⚜ A. | MM. GÉRY ⚜ A. |
| BELLOCQ ⚜ I. | SCHWARTZ ⚜ A. |
| FONTÈS ⚜ A. | |

*Chargés de cours et Agrégés :*

| | |
|---|---|
| MM. BLUM (Paul) ✻ ⚜ I. | MM. KELLER ⚜ A. |
| GELMA ⚜ A. | LARROUSSE |
| GUNSETT ✻ ⚜ A. | SIMON ✻ |
| HANNS ✻ ⚜ A. | VAUCHER ⚜ A. |
| HUMBERT ✻ ⚜ A. | WEISS A. |

# SERMENT D'HIPPOCRATE.

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!

*A mon Père et à ma Mère*

---

*A ma Femme et à mon Fils*

---

*A mon Oncle Baruch Weill*

---

*A la Mémoire de mon inoubliable Maître*

*le Professeur*

## LÉON BLUM

*Professeur de Clinique Médicale à la Faculté*

*Officier de la Légion d'Honneur*

*Au Professeur*

*Georges SCHAEFFER*

*Professeur de Physiologie à la Faculté*

*qui à bien voulu remplacer auprès de nous notre Maître disparu en acceptant de présider cette thèse.*

*Au Professeur*

*Maurice NICLOUX*

*Professeur de Chimie physiologique à la Faculté*

*au Maître qui nous initia à la chimie biologique.*

*Au Professeur*

*Charles PFERSDORFF*

*Professeur de Clinique Psychiatrique*

*A notre premier maître d'externat.*

*Au Docteur*

*E. VAUCHER*

*Chargé de Cours à la Faculté*

*qui en des heures particulièrement difficiles nous a apporté son encouragement et le concours de son autorité avec une bien veillance et une amitié jamais en défaut.*

# AVANT-PROPOS.

Cette étude est le premier travail publié depuis le décès de mon maître, le professeur Léon Blum.

Il s'y est intéressé sans relâche depuis le jour où je commençai cette étude jusqu'à celui où la maladie l'obligea d'interrompre toute activité.

C'est pourquoi j'ai placé sous l'invocation de sa mémoire une thèse que je me serais fait un honneur et une joie de soutenir devant lui s'il était encore parmi nous.

Aussi bien, son esprit et sa pensée n'en sont-ils pas absents, du moins je l'espère, car je me tiendrais pour satisfait si seulement ceux de ses disciples qui la liront y reconnaissaient l'empreinte que l'enseignement d'un tel Maître a laissé à tous ceux qui en ont été nourris.

Le professeur Schaeffer a bien voulu accepter de présider le jury auquel je la présente. Que je l'aie prié de remplacer mon maître disparu montre assez en quelle haute estime je le tiens. Et ce m'est un devoir particulièrement agréable à remplir que de le remercier ici pour l'intérêt qu'il a pris à mes recherches et les conseils qu'il m'a donnés avec une bonne grâce qui n'a d'égale que l'étendue de son savoir.

Je n'ai jamais fait appel à l'érudition et à l'amabilité, de Mademoiselle Lebreton sans trouver auprès d'elle, avec l'accueil le plus empressé, les renseignements les plus sûrs et les plus précis.

Ce travail est le resultat d'une collaboration constante avec mon ami, Pierre Grabar, Docteur en chimie, chef de laboratoire; et je ne saurais mieux faire pour le remercier que d'inscrire son nom en tête d'une étude qui lui doit tant et

où je voudrais avoir judicieusement utilisé les matériaux qu'il me procura.

Je ferai de même pour mes amis les docteurs Van Caulaert, ancien chef de clinique, Stahl et H. Metzger, Internes des Hôpitaux, avec lesquels je me suis si souvent entretenu de mes travaux, dans nos quotidiennes rencontres, qu'ils y ont une part certaine de collaboration dont je les remercie également et que je m'en voudrais de ne pas reconnaître.

Mes remerciements iront enfin à Mademoiselle Haudenschild qui fut pour moi une auxiliaire aussi intelligente que dévouée et voulut bien se charger, avec une inlassable patience, de la partie la plus ingrate de ce travail dont elle est d'autant plus fondée à revendiquer une part qu'elle en fut la plus utile ouvrière.

Chapitre I

# INTRODUCTION.

## I. Les Propriété des Protéines.

Depuis les travaux de Graham la science des colloïdes a pris un essort considérable. Des expressions mathématiques et quantitatives de la plupart des phénomènes qui caractérisent l'état colloïdal, ont été établies. Il a été démontré que la chimie des colloïdes ne constitue nullement une chimie particulière mais obéit au contraire aux lois fondamentales qui régissent les réactions de la chimie classique. L'étude des protides sanguins qui nous intéressent plus particulièrement repose sur ces données nouvelles. Il importe donc de connaître les théories principales qui traitent de la nature des colloïdes.

Graham avait divisé la matière en deux groupes: les *colloïdes* et les *cristalloïdes*, suivant la diffusion rapide ou lente et la faculté ou l'incapacité des corps de traverser une membrane de parchemin. Alors que les alcalis, les acides, les sels, le sucre, l'alcool présentent un grand pouvoir de diffusion et traversent facilement les membranes, les corps comme la gomme, la colle, l'albumine diffusent avec une lenteur extrême et sont incapables de traverser ces membranes. En se basant sur ces caractères différentiels Graham sépare par sa méthode de dialyse un mélange de colloïdes et de cristalloïdes.

Mais les travaux modernes ont montré que les colloïdes ne forment pas une classe particulière de substances. Suivant la nature du solvant, selon le traitement particulier qu'on leur fait subir, les corps chimiques les plus variés peuvent prendre l'état cristalloïde ou l'état colloïde. Le chlorure de sodium est en solution colloïdale dans le benzène, tandis que sa solution aqueuse est cristalloïde (Paal — Karczag).

Il y a donc lieu de parler plutôt d'état colloïdal que de substances colloïdales. C'est la nature des forces maintenant en solution les substances qui crée une distinction capitale entre l'état colloïdal et l'état cristalloïde. Les forces qui conditionnent la stabilité des cristalloïdes en solution sont dues à l'affinité chimique entre les molécules du corps dissout et celles du solvant qui s'attirent mutuellement (forces de valences secondaires).

Des agrégats moléculaires se forment dès que les forces d'attraction deviennent trop faibles. Mais ces agrégats peuvent se

maintenir en suspension à condition qu'il s'établisse une différence de potentiel entre chaque particule et le solvant. Dans ce cas on est en présence d'une solution colloïdale. La stabilité des solutions colloïdales est assurée par des forces de répulsion électro-statiques produites par une double couche électrique à la surface-limite entre chaque particule et l'eau. De faibles concentrations salines suffisent à précipiter les particules et l'ion actif du sel porte une charge de signe opposé à celle des particules précipitées. L'addition de sel diminue la différence de potentiel entre les particules colloïdales et le solvant. Les mesures de charges électriques entreprises par de nombreux auteurs ont vérifié cette hypothèse. *(J. Lœb.)*

En appliquant ce critère aux solutions de protéïne on constate que certaines d'entre elles sont maintenues en solution par les forces de répulsion électro-statiques, car de petites quantités de sel suffisent à amener la précipitation. L'albumine dénaturée en est un exemple.

D'autres protéines comme l'ovalbumine cristallisée ou la gélatine sont maintenues en solution par les forces de valence secondaires tout comme les solutions cristalloïdes.

Cette constation est des plus importantes: elle démontre que certaines protéïnes se comportent comme de véritables cristalloïdes en ce qui concerne leur solubilité. On ne peut donc pas maintenir la classification faite entre les colloïdes hydrophiles, émulsoïdes, dont ferait partie la totalité des protéïnes et les colloïdes hydrophobes ou suspensoïdes parmi lesquels se placeraient surtout les métallosols *(Höber, Zsigmondy)*.

Ce que l'on doit distinguer ce sont les propriétés des corps. Une même substance peut en effet prendre l'allure générale des cristalloïdes à l'égard de certaines propriétés et prendre vis-à-vis d'autres propriétés l'allure particulière aux colloïdes.

Les auteurs ont particulièrement étudié les propriétés physiques des solutions de protéine, le phénomène d'agrégation ayant spécialement retenu leur attention. Pour expliquer l'état de suspension, on était parti de l'hypothèse que le dernier élément des solutions colloïdales était formé par un agrégat de molécules ou d'ions que l'on avait nommé micelle *(Naegeli)*. Une chimie spéciale des colloïdes, différente de celle des cristalloïdes semblait ainsi constituée. L'adsorption élective des ions à la surface des particules colloïdes suivant la formule empirique de *Freundlich* formait jusqu'au ces dernières années le noyau de toutes les théories de l'état colloïdal.

*Les séries de Hofmeister.*

Cette hypothèse a trouvé un grand appui dans les expériences de *Hofmeister* entreprises dans le but de montrer que des ions de

même valence et de même signe influent d'une manière entièrement différente sur les propriétés physiques des protéïnes. De nombreuses recherches se basent sur les travaux fondamentaux de *Hofmeister.*

En plongeant des feuilles de gélatine dans des solutions salines de concentrations équivalentes et en variant les anions, tout en maintenant invariables les cations, on observe des différences fondamentales dans le gonflement de la protéïne. On obtient suivant l'intensité des effets obtenus la série que voici:

$SO^4$ , Tartrate , Citrate $<$ acétate $<$ Cl $<$ Br $NO^3$ $<$ J $<$ SCN

les premiers ayant une action deshydratante provoquent une retraction de la gélatine tandis que les derniers provoquent un gonflement considérable.

En changeant uniquement les cations on constate également une différence d'effet, moins prononcée il est vrai. On retrouve à peu près la même série en observant la chute de la pression osmotique. Par addition d'électrolytes neutres à des solutions de protéïne l'effet est décroissant:

$$SO^4 > Cl > Br > J > NO^3 > SCN \text{ } (Lillie)$$

et enfin la solubilité des protéïnes est également influencée, mais différemment, par les sels neutres:

SCN J $<$ $ClO_3$ $<$ $NO^3$ $<$ Cl $<$ acétate $<$ $SO^4$ $<$ tartrate $<$ citrate

La même série se retrouve dans l'influence des sels sur la coagulabilité par la chaleur. La température de coagulatien est élevée progressivement par

Tartrate , $HPO^4$ $SO^4$ $<$ Br $<$ $NO^3$ , J $<$ SCN

On a pu démontrer une différence analogue de l'action des anions dans l'effet des sels neutres sur l'abaissement de la solubilité des substances difficilement solubles, des gaz en particulier (Höber).

$$SCN < J < Br \text{ } Cl < SO^4$$

On a essayé d'expliquer cette tendance à l'hydratation différente des ions par la théorie moderne des atomes d'après laquelle l'«hydrophilie d'un ion» est d'autant plus grande qu'est plus grande sa charge et plus petit son rayon. D'après cette classification on obtient la série des anions.

$$SO^4 > Cl > Br > J$$

correspondante à la série de *Hofmeister.*

Les travaux de *Hofmeister* et de son école semblent donc étayer solidement la théorie de l'adsorption élective des ions. Elle a été acceptée d'autant plus aisément par les chercheurs que les phénomènes de précipitation avaient retenu l'attention parmi toutes les propriétés colloïdales des protéïnes et que l'on était ainsi

conduit à admettre que les agrégats réagissaient seulement par leur surface.

*La théorie du Lœb.*

Aux théories de l'adsorption élective des ions *(Pauli)* par les protéines *Jacques Lœb* a opposé sa conception de l'état colloïdal des protéines étayée sur une nombre impressionnant d'expériences qui tiennent compte de la totalité des propriétés colloïdales. Ayant reconnu l'importance de la concentration du milieu en ions H comme variable capitale, il a pour la première fois entrepris l'étude systématique des protéines à égalité de concentration en ions H, et, observé les répercussions qui résultent de la variation du pH sur les réactions des protéïnes. «Ce n'est qu'un malheureux accident historique» observe-t-il «si les propriétés colloïdales ont été étudiées avant qu'aient été étudiées les méthodes propres à la mesure des concentrations en ions H.»

Les acides aminés et les peptides qu'ils constituent sont des *ampholytes* pouvant libérer par dissociation des ions H ou des ions OH suivant la réaction du milieu.

C'est précisément ce caractère d'ampholyte des protéïnes qui rend indispensable la mesure des concentrations en ions H. Sans qu'il soit utile d'insister sur la définition et la méthode de la mesure du pH, nous dirons seulement que la valeur de l'ionométrie consiste en ce qu'elle permet de mesurer les ions H libres, *l'acidité actuelle.*

pH = 7 représente l'état neutre; une solution acide à un pH < 7, une solution alcaline un pH > 7.

L'introduction de la mesure du pH dans l'étude des solutions de protéïne a permis à *Jacques Lœb* de prouver que les protéïnes se combinent aux acides et aux bases suivant les lois stöchiométriques et que la chimie des protéïnes ne diffère pas de celle des cristalloïdes.

Tout d'abord, contrairement aux théories en cours sur la solubilité des protéïnes, il n'est pas exact, d'après *Lœb,* que toutes les protéïnes se trouvent à l'état colloïdal dans leurs solutions. Ce qui forme la distinction capitale entre l'état colloïdal et l'état cristalloïde c'est la nature différente des forces qui maintiennent en solution la substance dissoute, comme nous l'avons déjà dit.

*Solubilité des protéïnes.*

La différence de solubilité des diverses protéïnes s'explique en somme aisément. Il suffit de se rappeler que les protéïnes se forment par la liaison d'acides aminés qui sont tous des cristalloïdes, mais dont la solubilité présente de grandes variations. Alors

que la glycine ou l'alanine sont très solubles dans l'eau, d'autres comme la tyrosine ne le sont que faiblement. On imagine facilement que d'après la nature et la combinaison des acides aminés constituant les protéïnes, la solubilité de celles-ci est différente. Que les groupes insolubles prévalent et il arrivera que l'attraction entre l'eau et les particules sera si faible que seule une couche électrique double pourra les maintenir en suspension; tandis que d'autres protéines composées d'acides aminés solubles pourront être maintenus par les mêmes forces que celles qui s'exercent sur les cristalloïdes. Certaines protéïnes, parmi lesquelles les albumines du sérum, se comporteront en beaucoup de points comme des cristalloïdes; leur allure colloïdale ne se manifestera que dans certaines conditions bien déterminées, quand il existera un obstacle à la diffusion des ions de très grande taille, mais non à celle des ions de petit dimension. C'est pour prouver l'exactitude de cette hypothèse que *Jacques Lœb* a entrepris un très grand nombre d'études que nous croyons utile de résumer ici pour la compréhension de nos travaux personnels.

*Propriétés cristalloïdes des protéïnes.*

Les albumines sont constituées par des acides aminés combinés entre eux en nombre variable et formant des molécules énormes. Elles sont caractérisés par l'existence d'une fonction acide COOH et d'un groupement basique $NH^2$ susceptibles donc de dissocier électrolytiquement une fonction acide et une fonction alcaline.

Quand on admet avec *Jacques Lœb* que les éléments ultimes d'une solution de protéïne sont en règle générale des molécules ou des ions isolés de protéïne réagissant normalement avec les acides et les bases le point isoélectrique (p. i.) d'une protéïne est défini par la concentration en ions H pour laquelle la protéïne existe pratiquement à l'état non ionogénique parce qu'elle ne peut alors former ni protéinate métallique ni sel acide de protéine.

L'expérience suivante démontre l'existence des protéïnes sous trois différents états:

Celui de protéïne iso-électrique,
celui de protéinate métallique, gélatinate de Na, p. ex. et
celui de sels acides de protéine, de chlorure de gélatine p. ex.

Le p. i. de la gélatine est situé à pH 4,7. La gélatine ne peut à cette concentration se combiner ni à l'anion ni au cation d'un électrolyte.

Lorsque le pH est $< 4{,}7$ la gélatine ne peut former qu'un gélatinate métallique. Pour un pH $> 4{,}7$ la gélatine ne peut se combiner qu'aux anions.

On traite à la chambre noire de la gélatine en poudre, portée à des pH différents, avec une solution de nitrate d'argent. On prépare des solutions de concentrations égales, débarrassées de l'exès d'argent et on les expose à la lumière.

En une demi-heure la gélatine a noirci dans les solutions à pH $>$ 4,7. Partout où le pH est égal à 4,7 ou plus petit la gélatine, même exposée à la lumière pendant plus d'une année, reste incolore.

En traitant au contraire avec une solution de ferro-cyanure de potassium des solutions de gélatine portées à des pH différents on observe une coloration bleue par formation de sel ferrique dans toutes les solutions à pH $<$ 4,7. Les solutions dont le pH est égal à 4,7 ou supérieur restent incolores.

La gélatine s'est comportée dans le premier cas comme base, dans le second comme acide. Au p. i. elle ne s'est combinée ni à l'anion, ni au cation.

On peut représenter les résultats de la manière suivante:

en mettant entre crochets la partie de la molécule de la gélatine qui ne peut pas réagir avec d'autres électrolytes et en dehors des crochets la partie réagissante, une gélatine iso-électrique ne se combinant ni aux anions ni aux cations sera représentée par le symbole

$$\left[R \begin{matrix} - NH^2 \\ - COOH \end{matrix}\right]$$

Du côté alcalin du p. i. il n'y a que les groupes COOH de la molécule qui puissent réagir avec d'autres substances comme le feraient de simples acides gras, la molécule s'écrira alors

$$\left[R \begin{matrix} - \overline{NH^2} \\ - COOH \end{matrix}\right]$$

et en présence d'un hydroxyde, la soude par exemple, on aura

$$\left[R \begin{matrix} - \overline{NH^2} \\ - COOH \end{matrix}\right] + NaOH \rightarrow \left[R \begin{matrix} - \overline{NH^2} \\ - COONa \end{matrix}\right] + H^2O$$

on obtient donc par action des alcalis, des protéïnates qui se dissocient électrolytiquement en un anion protéine, et un cation $Na^+$

$$\left[R - \overline{\begin{matrix} NH^2 \\ COO\,Na \end{matrix}}\right] \rightarrow \left[R \begin{matrix} - \overline{NH^2} \\ - \overline{COO} \end{matrix}\right] + Na^+$$

Quoique ce symbole ne contienne qu'un groupe COOH il faut savoir qu'en règle générale il y a dans une molécule de protéïne plusieurs de ces groupes capables de se combiner à des bases *(Sörensen, Pauli)*.

Du côté acide il n'y a que les groupes $NH^2$ capables de réagir, le schéma devient

$$\left[R \begin{matrix} - NH^2 \\ = \overline{COOH} \end{matrix}\right]$$

La protéïne se comporte sous cette forme comme une base, capable de se lier à HCl, de façon que l'ion H de l'acide se lie directement à N l'ion Cl restant hors du cycle des 4 H

$$\left[R - \begin{matrix}NH^2 + HCl \\ COOH\end{matrix}\right] = \left[R - \begin{matrix}\overset{H}{\underset{H}{N}}H\,Cl \\ COOH\end{matrix}\right]$$

le corps se dissocie électrolytiquement de la façon suivante:

$$\left[R - \begin{matrix}NH^3Cl \\ COOH\end{matrix}\right] \rightleftarrows R - \begin{matrix}\overset{+}{NH^{3+}} + \overset{-}{Cl} \\ COOH\end{matrix}$$

La conclusion qui se dégage de ses faits est capitale. La chimie générale des protéïnes en subit une simplification extraordinaire. Des deux côtés du p. i. on peut négliger l'énorme molécule de la protéïne; en milieu alcalin la protéïne se comporte comme un acide gras, seul le groupe COOH entre en réaction. Du côté acide ce sont les groupes $NH^2$ qui réagissent seuls chacun pouvant s'adjoindre un ion H de l'acide. Il importe encore pour notre étude de savoir que les protéïnes formant avec les acides et les bases des sels définis sont incapables de se combiner pratiquement à la fois avec le cation et l'anion d'un sel neutre.

*La loi des proportions définie appliquée aux protéïnes.*

En mesurant la conductivité, la pression osmotique et la viscosité d'une gelatine préparée au p. i. et mise en solution à des pH différents, on observe que les propriétés physiques de la gélatine passent par un minimum à son p. i. En étudiant la nature du composé formé par la protéïne iso-électrique avec les acides, et les courbes de titration on arrive à démontrer que les ions se combinent avec les protéïnes en proportions définies.

L'H Cl se combine selon l'idée de *Werner* avec les groupes $NH^2$ de la molécule en formant un sel du type $RNH^3$ Cl comme il se combinerait à $NH^3$. On peut donc considérer les chlorures de gélatine comme électrolytiquement dissociés de la manière suivante:

$$\text{gélatine } NH^3 - Cl \rightarrow \text{gélatine } HN^{3\,+} + Cl^-$$

L'expérience prouve que les acides se combinent à la protéïne de la même manière qu'avec les bases cristalloïdes p. ex. $NH^3$. On prépare des solutions à 1% d'ovalbumine cristallisée prise à l'état i. e. et en ajoutant des quantités variables d'acide ou d'alcali, on mesure le pH de cette solution; on établit des courbes de titrage en marquant les quantités en cmc d'acide chlorhydrique, sulfurique, phosphorique, oxalique, nécessaires pour amener à différents pH les solutions d'ovalbumine.

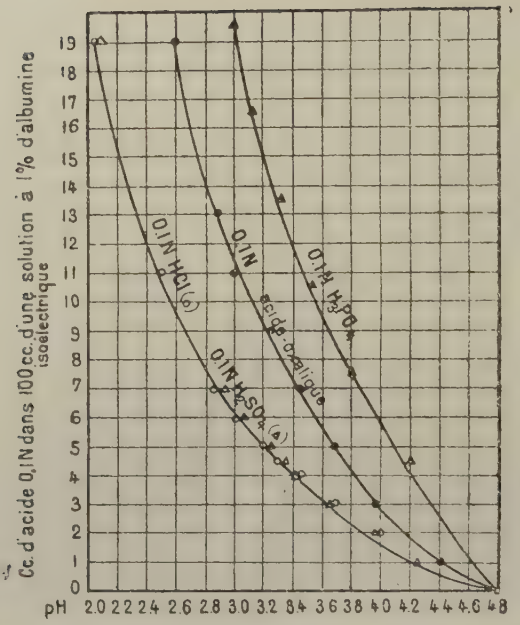


Fig. 1 — Les ordonnées représentent le nombre de cmc des acides chlorhydr., sulfur., oxalique et phosphor. *0,1 n* nécessaires pour amener 1g d'ovalbumine crist. isoélectr. aux pH indiqués sur l'axe des abcisses. A pH égal les ordonnées relatives aux acides chlorhydr., sulfur, et phosph. sont approximativement dans le rapport 1 : 1 : 3. Le rapport des ordonnées relatives à l'acide chlorhydr. et à l'acide oxal. est un peu moindre que $^1/_2$ lorsque le pH est > 3,0. *(Loeb).*

On voit ainsi en traçant les courbes des quantités d'acides combinés aux protéïnes que la loi des proportions définies régit elle aussi les combinaisons des acides avec les protéïnes.

Les courbes ne sont identiques que pour les acides forts monovalents. Il n'en va plus ainsi pour les acides faibles. Plus un acide est faible plus il en faut pour amener une solution au même pH. Mais là encore on peut prouver d'une manière indirecte que la quantité d'anions combinés à une quantité de protéïne donnée, dans un même volume, et à pH égal est la même pour tous. De même les alcalis se combinent en proportions équivalentes avec les protéïnes (ovalbumine cristallisé) comme ils le feraient avec les acides cristalloïdes.

Les rapports de combinaison des acides et des bases avec les protéïnes sont donc identiques aux rapports de combinaison de ces mêmes corps avec les cristalloïdes.

La présence fréquente d'agrégats dans les solutions de protéïnes n'entrave en rien leur obéissance aux lois de la chimie générale.

Quand on laisse se transformer une solution à 1% de gélatine en gel, la distance moyenne entre les molécules des protéïnes reste probablement la même. L'eau, les alcalins, les acides diffusent librement à travers un gel et ainsi les ions protéides restent accessibles à l'alcali ou à l'acide comme dans une solution vraie.

Il convient en outre de remarquer que pour comparer l'activité relative de deux ions en combinaison avec les protéïnes il faut que la concentration des protéïnes prises à l'état i. e. soit la même dans les deux solutions et que la fraction de cette protéïne qui s'est combinée aux deux ions soit la même c. à. d. que le pH reste identique.

La solubilité des protéïnes a le même caractère que celle des acides aminés c. à. d. des cristalloïdes. Comme beaucoup de cristalloïdes ionisables les protéïnes sont plus solubles à l'état ionisé qu'à l'état non-ionisé. Aussi leur solubilité est-elle généralement minima au point i. e. comme c'est également le cas pour les acides aminés. *(Michaelis.)*

La présence de particules sub-microscopiques dans les solutions de protéïne ne les empêche donc pas d'obéir aux lois qui régissent la solubitié des cristalloïdes. Il se forme aussi des agrégats dans les solutions aqueuses de cristalloïdes vrais. La solubilité dépend de la configuration électronique des atomes et des molécules. Il est évident que dans le cas de grosses molécules comme la protéïne, la solubilité des différents groupes constituants peut être différente. C'est ainsi que la gélatine contient vraisemblement des groupes hydrophiles et des groupes «éléïques» dont l'affinité pour l'eau est faible. Mais il n'en reste pas moins vrai que la résultante de ces combinaisons (la protéïne), se comporte en général comme un cristalloïde en ce qui concerne la solubilité.

On peut supposer, et l'expérience confirme la partie essentielle de cette hypothèse, que les protéïnes ont en général, sauf en des conditions nettement déterminées. l'allure de cristalloïdes vis-à-vis de toutes les propriétés qui dépendent de la structure électronique dela matière: viscosité (dans les solutions libres de particules solides en suspension) tension superficielle, élasticité.

*Propriété colloidales des protéïnes.*

Les protéïnes ne se comportent comme colloïdes que lorsqu'il existe un obstacle à la diffusion de leur gros ions. Un tel obstacle peut être formé par une membrane de collodion p. ex. imperméable aux ions de protéïne, entièrement perméable aux petits ions cristalloïdes. Contrairement à l'opinion émise par *Pauli* l'obstacle

peut résulter également des forces de cohésion entre les molécules d'un gel de protéïne, parfaitement perméable aux ions cristalloïdes.

Dans ces conditions s'établit un équilibre de *Donnan* qui détermine une différence de concentration moléculaire des ions cristalloïdes entre une solution ou un gel de protéïne d'une part et le solvant ou le liquide environnant d'autre part et qui donne naissance à l'allure colloïdale des protéïnes. Voici brièvement résumés les principes qui régissent cet équilibre.

Quand l'équilibre est établi dans les solutions se trouvant des deux côté de la membrane le produit des concentrations de deux ions diffusibles de charge inverse est le même des deux côtés de la membrane: la différence de concentration des ions cristalloïdes donne naissance à des différences de potentiel et à des forces osmotiques expliquant les propriétés colloïdales des protéines.

Soit une membrane imperméable à $R^-$ anion du sel Na R et aussi à la molécule Na R, mais perméable à tous les autres ions et sels

| $Na^+$ | $Na^+$ |
|---|---|
| R | Cl |
| (1) | (2) |

Dans ce cas Na et Cl diffusent de 2 → 1

| $Na^+$ | $Na^+$ |
|---|---|
| R | |
| $Cl^-$ | $Cl^-$ |
| (1) | (2) |

Quand cet équilibre est établi l'énergie nécessaire pour transporter de manière reversible et iso-therme une molécule gramme de Na de 2 → 1 est égale à l'énergie qui peut être obtenue par le transport correspondant reversible et iso-therme d'une molécule gramme de Cl de 1 → 2.

La diminution de l'énergie libre est nulle. Donc

$$[Na^+]_{(2)} \quad [Cl^-]_{(2)} = [Na^+]_{(1)} \quad [Cl^-]_{(1)}$$

En passant d'une phase à l'autre les ions se déplacent par paires en raison du fait que leur séparation créerait des forces électro-statiques puissantes capables d'empêcher leur diffusion, de sorte qu'un ion Na ou Cl frappant seul la membrane ne pourrait pas la traverser. Comme la membrane est librement perméable à Na et à Cl à la fois rien n'empêche les ions d'arriver dans le liquide placé de l'autre côté lorsqu'ils rencontrent la membrane en même temps. La vitesse de diffusion dépend du nombre de rencontres avec la membrane; la fréquence est proportionelle à leur concentration. L'équilibre établi, la vitesse de transport de $1 \underset{\leftarrow}{\rightarrow} 2$

est exactement la même. Par conséquent le produit des concentration a la même valeur dans les deux solutions.

L'équilibre est donc atteint lorsque le produit de la concentration d'un couple de cations et d'anions diffusibles est égal aux produits des concentrations du même couple d'ions de l'autre côté de la membrane.

La concentration des cations Na du côté 1 où se trouve R (gélatine p. ex.) est la somme du nombre de ces cations combinés à R et de ceux combinés à Cl, tandis que de l'autre côté la concentration en ions Na est la même que la concentration en ions Cl. par suite

$$\text{Na dans (1)} > \text{Na dans (2)}$$
$$\text{ils'en suit que}$$
$$\text{Cl dans (1)} < \text{Cl dans (2)}$$

Considérons maintenant l'effet de la complication introduite dans le système par l'addition d'un autre sel tel que K Br. L'équilibre ne pourra s'établir que lorsque le produit K × Br a la même valeur dans les deux solutions de même que K × Cl et Na × Br. En d'autres termes quel que soit le nombre des électrolytes monovalents présents dans le système, l'équilibre sera atteint dès que le produit des concentrations de chaque paire d'ions diffusibles de charge opposée sera égal dans les deux solutions.

Cette inégalité de concentration des divers ions diffusibles des deux côtés de la membrane explique l'influence des électrolytes sur toutes les propriétés physiques des protéïnes que jusqu'alors on avait essayé d'expliquer par les hypothèses de dispersion ou d'hydratation.

La théorie de *Donnan* est donc liée à l'existence d'une espèce d'ions non diffusibles. Cette condition est réalisée par le fait que les protéïnes forment avec les acides et les bases des sels ionisables et que l'ion protéïne ne peut pas traverser la membrane. Les expériences entreprises pour étudier l'influence des électrolytes sur la pression osmotique démontrent que le signe et la valence de l'ion qui entre en combinaison avec la protéïne détermine sa pression osmotique, alors que la nature spécifique de l'ion ne semble pas avoir l'influence qu'on lui a attribuée. La viscosité des solutions de protéïne, le gonflement des gels varient sous l'influence des électrolytes dans le même sens que leur pression osmotique. Ce parallélisme découle du fait que ces deux propriétés sont dues en dernier lieu à la pression osmotique. L'analogie de ces propriétés est un critère corroborant l'effet *Donnan*.

L'établissement d'un équilibre de *Donnan* ne nécessite pas la présence d'ions colloïdaux. Il suffit qu'une membrane appropriée empêche un ion, fût-il cristalloïde, de la traverser, alors que tous les autres ions diffusent librement. Si l'on corrige l'effet de la

distribution inégale des ions sur la pression osmotique au moyen de l'équation de l'équilibre de *Donnan*

$$X^2 = Y\,(Y + Z)$$

(où X est la concentration de l'anion et du cation diffusible dans le liquide extérieur, Y la concentration de ces ions libres dans la solution à l'intérieur (du gel ou de la membrane) et Z enfin la concentration de l'anion et du cation combinés à la protéïne), on trouve qu'il ne reste plus rien à expliquer par une théorie spéciale des colloïdes. Toutes les modifications des propriétés physiques dues à des électrolytes peuvent être déduites mathématiquement de l'équation de l'équilibre de *Donnan* et aux erreurs d'expérience près l'expérimentation fournit une confirmation quantitative des valeurs calculées.

En effet les électrolytes exercent une action parallèle sur la pression osmotique, et, dans des conditions déterminées, la viscosité des solutions de protéïne, et sur le gonflement de leurs gels. La modification de ces propriétés obéit à quelques règles:

*L'addition d'un acide augmente jusqu'à un certain point la pression osmotique et la viscosité des solutions de protéïne, et le gonflement de leurs gels. L'addition ultérieure d'acide diminue la grandeur de ces propriétés; l'addition de sels neutres diminue également ces valeurs. L'influence des électrolytes croit avec la valence de l'ion dont la charge a un signe opposé à celui de l'ion de protéïne; ce n'est que la valence des ions cristalloïdes et non leur nature qui modifie les propriétés colloïdales, a moins que l'électrolyte ait une influence secondaire qui s'exerce de manière indirecte.*

Les *potentiels de membrane,* c'est-à-dire les différences de potentiel entre des solutions de sels de protéïnes et de liquides aqueux libres de protéïnes, séparées par une membrane de collodion, varient sous l'influence des électrolytes dans le même sens que les trois propriétés physiques mentionnées. Or la grandeur des potentiels de membrane peut être reliée par une relation mathématique et quantitative à la théorie des équilibres de membrane de Donnan. On peut donc calculer la différence de concentration des électrolytes diffusibles des deux côtés de la membrane au moyen de l'équation de Donnan. Ainsi on obtient le moyen de prévoir de façon quantitative et mathématique l'influence des électrolytes sur les propriétés colloïdales des membranes.

Nous exposerons avec quelques détails les relations qui relient le potentiel de membrane à l'équilibre de Donnan. Nous serons en suite en mesure de comprendre l'action parallèle des électrolytes sur la pression osmotique, la viscosité et le gonflement.

«Ainsi donc, — remarque *Lœb* — deux lois de la chimie classique suffisent à expliquer mathématiquement et quantitative-

ment les propriétés colloïdales des protéïnes, à savoir la loi des proportions définies et la théorie des équilibres des membranes de Donnan.»

*Explication par l'effet Donnan des propriétés colloïdales des protéïnes.*

Cette conclusion de *Lœb* permet d'interprêter l'influence des électrolytes sur les protéïnes et de calculer la grandeur de cet effet par l'équation relative à son équilibre. Il sera facile, ces notions une fois acquises, de comprendre l'influence des électrolytes sur la pression osmotique. L'accroissement de la pression osmotique dans une solution de gélatine à 1% prise à l'état i. e., observé par addition de la quantité d'acide nécessaire pour atteindre le maximum; la diminution de la pression osmotique due à l'addition ultérieure d'une quantité d'acide plus forte dépendent uniquement de l'équilibre de Donnan et nullement de la phase disperse des protéïnes.

*I. Potentiel de membrane.*

Quand on sépare par une membrane de collodion de l'eau distillée d'une solution d'un sel de protéine, du chlorure de gélatine à 1% p. ex. une différence de potentiel s'établit entre ces deux liquides après que l'équilibre osmotique est atteint. Cette différence de protentiel est influencée par les électrolytes tout comme la pression osmotique et la viscosité; elle varie également avec le pH.

En mesurant la force électrométrique d'une pile construite avec la solution de chlorure de gélatine séparée de l'eau distillée par une membrane colloïdale, on constate que la solution de chlorure de gélatine a une charge positive et le liquide extérieur une charge négative. Le potentiel de membrane varie avec le pH et la valence de l'anion.

Le potentiel de membrane peut être calculée au moyen de la différence de concentration d'un ion diffusible quelconque tel que l'ion H ou l'ion Cl à l'intériur et à l'extérieur de la membrane au moment de l'équilibre. La différence de potentiel dépendant donc de la différence entre le pH extérieur et le pH intérieur, peut être mesurée directement au moyen de l'électrode à hydrogène. La valeur ainsi obtenue est égale à celle mesurée avec des électrodes indifférentes.

Cette égalité des valeurs obtenues démontre que les différences de « potentiel de membrane » résultent d'une différence de concentration des ions H des deux côtés de la membrane conformément à la théorie de *Donnan*. La différence de potentiel s'accroît par addition d'une petite quantité d'acide à la gélatine iso-électrique puisque ainsi la quantité du chlorure de gélatine augmente.

En effet considérons de nouveau l'équation

$$X^2 = Y\,(Y + Z)$$
$$X = \sqrt{Y\,(Y + Z)}$$

Dans l'expression $\frac{X}{Y}$, (rapport des concentrations moléculaires à l'ext. et à l'int.) on substitue à x ce dernier terme, on a

$$\frac{\sqrt{Y\,(Y + Z)}}{Y} = \sqrt{\frac{Y + Z}{Y}} = \sqrt{1 + \frac{Z}{Y}}$$

De l'expression $\sqrt{1 + \frac{Z}{Y}}$ on peut déduire l'influence du pH sur les différences de potentiel; elle est proportionnelle à log $\left(1 + \frac{Z}{Y}\right)$

Si nous ajoutons à de la gélatine isoélectrique un peu de HCl il se formera plus de chlorure de gélatine c. à d. Z augmente.

Or au début la valeur de Z (chlorure de gélatine) croit plus rapidement que Y (HCl).

On voit donc que la plus grande quantité d'acide se combine à la gélatine au début de l'adjonction d'acide. L'inverse arrive lors de l'addition d'une quantité plus grande encore.

Ainsi l'équilibre de *Donnan* explique mathématiquement pourquoi la différence de potentiel commence par croître quand on ajoute H Cl à la gélatine i. e. jusqu'à pH égal 4,03 et pourquoi elle diminue quand le pH tombe jusqu'à 3, 8.

Les courbes de potentiel de membrane sont beaucoup plus élevées pour le chlorure et le phosphate de gélatine que pour le sulfate.

L'équation d'équilibre de *Donnan* pour le chlorure de gélatine est du 2e degré parce que l'anion est monovalent.

En effet $X^2 = Y\ Y + Z)$

$$X = \frac{Y\,(Y + Z)}{X}$$

$$\frac{X}{Y} = \frac{Y + Z}{X}$$

Elle devient du 3e degré quand l'anion est bivalent. Considérons le cas du Sulfate de gélatine.

Soit X = Conc. ion. de H dans le milieu ext.

Y = Conc. ionique de H dans le milieu int.

La concentr. ionique de $SO^4$ à l'extérieur sera $\frac{X}{2}$ } pour la partie qui correspond à l'acide $H^2SO$ libre.

à l'intérieur $\frac{Y}{2}$ }

La concentr. des mêmes ions comb. à la gélatine sera $\frac{Z}{2}$

Or, $H^2SO^4$ se dissocie en deux ions H et un ion $SO^4$. D'après l'équilibre de membrane on obtient donc

$$X^2 \left(\frac{X}{2}\right) = Y^2 \frac{(Y + Z)}{2}$$

$$X^3 = Y^2 (Y + Z)$$

$$X = \sqrt[3]{Y^2 (Y + Z)}$$

Si l'on substitue dans cette valeur $\frac{X}{Y}$ (rapports des concentrations d'ions H à X ou obtient $\frac{X}{Y} = \sqrt[3]{\frac{Y^2 (Y + Z)}{Y^3}}$

$$= \sqrt[3]{\frac{Y + Z}{Y}}$$

Les potentiels de membrane des solutions de chlorure et de sulfate de gélatine sont donc dans le rapport 3/2 pour un même pH et pour la même concentration de gélatine prise au point i. e. Les valeurs observées sont précisément celles qu'exige l'équilibre de *Donnan*. Les acides dibasiques et tribasiques faibles comme l'acide tartrique ou l'acide citrique se dissocient comme des acides monobasiques pour des pH égaux ou inférieurs à pH = 3 et à cette concentration la courbe est pareille à celle d'H Cl. A un pH plus élevé ces acides commencent à libérer leur second ion H et d'autant plus que leur seconde acidité est plus forte; les courbes tombent alors au-dessous de celles d'H Cl.

Quant aux protéïnates métalliques, le gélatinate de soude p. ex. et toutes conditions égales d'ailleurs, la théorie de *Donnan* exige que la soude passe à travers la membrane dans la solution extérieure; le pH intérieur devient ainsi plus petit que le pH extérieur. Le signe de la charge de gélatinate de soude doit être opposé à celui qu'on obtient pour le chlorure de gélatine. C'est ce que l'observation confirme; le changement de signe se fait au point isoélectrique.

2) L'addition d'un sel neutre diminue le potentiel de membrane. L'expérience démontre que cette diminution est due à la diminution de l'excès du pH intérieur sur le pH extérieur.

On prépare dans des sacs de collodion des solutions de chlorure de gélatine à 1% prise à l'état i. e. à pH = 3,5.

A cette solution on a oute du nitrate de soude de façon à ce que cette concentration varie de n/4,096 à n/32; le pH est maintenu invariable. On plonge les sacs dans des solutions de H Cl de pH = 3,0 contenant également Na $NO^3$ aux mêmes concentrations. L'équilibre une fois établi on trouve la valeur du «protentiel de membrane» diminuée par l'addition de sel dans une proportion d'autant plus forte que le sel est plus concentré.

3) Enfin l'action des sels est due à celui de leurs ions portant

le signe opposé à celui de l'ion de protéïne; l'activité du sel croît avec la valence de son ion actif.

L'expression (log. $1+\frac{Z}{Y}$) fournie par l'équation de *Donnan* fait du «protentiel de membrane» une fonction de Z et Y, c. à. d. de la concentration de l'ion actif.

Par conséquent les différents chlorures, quelle que soit la valence du métal, doivent abaisser de la même manière le potentiel de membrane lorsque la concentration en Cl est égale.

Pour terminer il convient d'attirer l'attention sur l'opinion souvent avancée que l'addition de sels modifierait le point i. e. des protéïnes. Les sels peuvent annuler la différence de potentiel; les solutions ou les gels peuvent perdre leur charge électrique, *mais le p. i. est une grandeur qui caractérise une protéïne donnée et qui ne dépend que de sa constitution.* Elle correspond à une concentration en ions H bien définie.

Nous aurons l'occasion de revenir au courant de notre étude sur ce point important

*II. Pression osmotique.*

La concentration moléculaires des ions cristalloïdes est donc toujours plus grande dans la solution de protéïne qu'en dehors d'elle; ce qui varie avec le pH de la solution c'est l'excès de concentration des anions. (Nous admettons pour simplifier que la dissociation est complète.)

Soit a = Conc. mol. de la somme des molécules et des ions de protéïne.

z = Conc. ionique des anions Cl se combinant à la protéïne ionisée,

y = Conc. ionique commune aux ions H et Cl de H Cl libre dans la solution de protéïne.

Si X est la Concentration ionique commune à H et Cl du liquide ext. la pression osmotique observée de la solution de protéïne dépend de la concentration moléculaire que voici

$$A + 2Y + Z - 2X$$

La pression osmotique par rapport à l'eau pure est égale à (A + 2 Y + Z). Il faut déduire de cette valeur la pression osmotique de HCl extérieur.

La pression osmotique représentée par la concentration moléculaire 2 y + z — 2 x est appelée correction de Donnan. Y et z peuvent être calculés d'après les mesures du pH (le pH int. étant — log y et le pH ext. étant — log x). L'équation de Donnan permet de calculer z à partir de x et y. Il apparaît ainsi que l'accroisement de la pression osmotique d'une solution à 1% de gélatine (prise à l'état iso-électrique), par addition de la petite quantité d'acide né-

cessaire pour atteindre le maximum, et que la diminution ultérieure de la pression par addition d'une quantité plus forte d'acide, ne sont pas dus à la variation de l'état de dispersion de la protéïne; mais la courbe de la pression osmotique dépend uniquement de l'incapacité de l'ion de protéïne de traverser la membrane de collodion, aisément perméable aux ions cristalloïdes. Par suite la concentration des ions cristalloïdes sera toujours plus grande dans les solutions de protéïne qu'à l'extérieur. Ce qui varie donc avec le pH de la solution de gélatine c'est l'excès de 2 y + z sur 2 x. Cela résulte de l'équation de Donnan:

$$x = \sqrt{y^2 + yz}\,; \qquad 2x = \sqrt{4y^2 + 4yz}.$$

$$\text{tandis que } 2y + Z = \sqrt{4y^2 + 4yZ + z^2}$$

$$\text{or } \sqrt{4y^2 + 4yz + z^2} > \sqrt{4y^2 + 4yz}$$

Ce qui revient à dire que la concentration des cristalloïdes à l'intérieur est toujours plus grande que la concentration d'ions cristalloïdes à l'extérieur.

Au p. i. la protéïne n'étant pas ionisée, z étant nul, l'expression $\sqrt{4y^2 + 4yz + z^2} - \sqrt{4y^2 + 4yz}$ devient nulle.

La pression osmotique observée à ce point est donc due entièrement à la protéïne. Elle est très petite en raison du poids moléculaire très élevé de la gélatine.

Qu'on ajoute une petite quantité d'acide, H Cl p. ex., à la solution de gelatine au p. i. et il se forme du chlorure de gelatine. Une partie de l'acide reste libre en raison de la diminution électrolytique de la dissociation. Z (conc. Cl. de protéïne) et y (conc. des ions de même nature appartenant à H Cl libre par suite de l'hydrolyse) croissent à la fois. Z croît plus vite que Y jusqu'à la saturation complète avec Cl. Alors l'excès des cristalloïdes intérieurs sur les cristalloïdes extérieurs atteint le maximum.

Quand on ajoute toujours plus d'acide il ne se forme plus pratiquement du *Chlorure de gélatine* Z devient négligeable; c'est y qui croît. La correction de Donnan a + y — 2 x tend à tomber vers O en présence d'une quantité suffisante de H Cl et la pression osmotique devient aussi basse qu'au p. i.

La courbe de pression osmotique en fonction des variations du pH est caractérisée uniquement par l'excès de concentration de H et de Cl intérieur sur H et Cl extérieur dans le cas du chlorure de gélatine.

Ce ne sont donc pas les acides qui modifient la pression osmotique; ce qui donne l'allure colloïdale aux protéïnes additionnées d'acide n'est autre chose que l'effet *Donnan* sur la distribution des électrolytes diffusibles des deux côtés de la membrane.

L'effet *Donnan* de tous les acides à anions monovalents est

égal parce que seule la valence, nous l'avons vu, entre en action dans l'équation de Donnan, pour les sels acides de protéïne. Ainsi la courbe de pression osmotique du sulfate de gélatine en solution n'atteint, à son maximum, que la moitié de la hauteur de celle du chlorure de gélatine, l'anion du sulfate de gélatine étant bivalent. Nous avons déjà exposé que lorsque l'anion du sel acide de gélatine devient bivalent l'équation est du 3ième degré. L'action du sulfate ne résulte donc pas d'un effet «deshydratant spécifique».

A concentrations de protéïne et d'ions H égales la valeur de la correction de *Donnan* est identique pour les acide sulfurique et sulfosalicylique, deux acides dibasiques forts; elle est la moitié de celle des acides monobasiques identiques entre eux (HCl, HBr, HI, $NO^3$ etc.)

A pH égal et en l'absence de sels neutres l'accroissement de la concentration d'une solution de protéïne fait croitre la pression osmotique en raison de l'accroissement du nombre des particules de la solution et de l'augmentation de la valeur 2 y + z — 2 x. Y restant constant c'est avec z qu'augmente la valeur.

*III. Gonflement.*

Les agrégats de gélatine en solution dans l'eau peuvent se former par l'adhésion du groupe «éléïque» d'une molécule avec celui d'une autre sans que pour cela les forces d'affinité des groupes hydrophiles de la molécule avec l'eau soient modifiés. Un gel sec de gélatine i. e. porté dans l'eau s'imbibe de liquide que les forces d'attraction entre l'eau et les groupes hydrophiles font pénétrer dans le gel. Comme la gélatine sèche n'est pas ionisée il ne se produit pas d'équilibre de *Donnan*. Aussi le gonflement de la gélatine aux pH 4,7 n'est-il pas dû au mêmes causes que le gonflement sous l'action des acides.

Il suffit d'ajouter une petite quantité d'acide à l'eau pour qu'aussitôt il se forme des sels ionisables de gélatine et qu'ainsi s'établisse un équilibre de *Donnan* entre le gel et le liquide environnant, l'ion gélatine ne pouvant pas diffuser librement; mais il se laisse pénétrer aisément par les ions de l'acide. La concentration des ions cristalloïdes est plus grande dans le gel que dans l'eau. Cet excès produit une diffusion d'eau dans le gél d'où gonflement de la protéïne.

La force qui attire l'eau dans un bloc solide de gélatine en milieu acide est de nature osmotique *(Procter et Wilson)*. La force antagoniste qui limite le gonflement est la force de cohésion entre les molécules de gélatine ou les ions qui constituent les mailles entre lesquelles le liquide est retenu.

Les ions protéïne ne peuvent diffuser et par suite d'après *Procter et Wilson*, ne peuvent pas exercer de pression osmotique

mesurable; les anions combinés avec eux sont retenus dans la gelée par l'attraction électro-statique de ces ions de gélatine, mais ils peuvent exercer une pression osmotique; ces conditions suffisent pour l'établissement d'un équilibre de *Donnan:*

Soit: $X$ = Conc. H et Cl. ext.
$Y$ = Conc. H Cl int. libre
$Z$ = Conc. Cl. dans gel.

$$X^2 = Y\,(Y + Z)$$

La pression osmotique due à l'absorption d'eau par le gel est donnée par $e = 2\,y + z - 2\,x$ (même formule que celle appliquée à la pression osmotique).

Si la force antagoniste de cohésion diminue, le gonflement doit augmenter. En effet le gonflement de la gélatine augmente quand on chauffe le gél.

L'influence du pH et de la valence de l'anion de l'acide ou du cation de la base doit être la même sur cette pression et sur celle d'une protéïne en solution, à cette différence près que la force antagoniste du gonflement du gel est constituée par la cohésion, tandis que la force antagoniste limitant l'attraction des molécules sur l'eau est sa propre pression hydro-statique. La même influence de la valence qu'on connaît relativement à la pression osmotique se manifeste aussi dans le gonflement.

Dans le cas des sels acides de caséïne moins solubles que les sels acides de gélatine la nature de l'anion modifie toutefois les forces de cohésion.

Ce fait n'est pas en opposition avec la théorie de *Lœb*, car les problèmes de solubilité et de cohésion n'ont qu'un rapport indirect avec les propriétés colloïdales.

Ainsi dans un gel de gélatine à des pH différents du p. i. une partie de l'eau est maintenue par les forces d'attraction mutuelles entre les groupes hydrophiles et l'eau, une autre partie par les forces osmotiques dues à l'excès d'ions cristalloïdes à l'intérieur sur ceux à l'extérieur. L'influence des acides et des bases sur le gonflement est fonction du pH et de la valence des ions et, toute pareille à celle exercée sur la pression osmotique.

Les sels diminuent le gonflement parce qu'ils diminuent la différence de concentration des ions cristalloïdes diffusibles entre le milieu intérieur et extérieur.

Ainsi s'explique l'analogie parfaite de l'action des électrolytes sur la pression osmotique et sur le gonflement. Il en est de même pour la *viscosité* due au gonflement des particules submicroscopiques solides qui se trouvent dans un liquide. Ce type de viscosité est particulier aux colloïdes; il dépend également d'un équilibre de *Donnan*.

*IV. Viscosité.*

Bien que les solutions de protéïne soient probablement des solutions vraies, formées d'ions et de molécules libres distribués uniformément dans l'eau, elles contiennent dans certaines conditions des particules solides sub-microscopiques de protéïne. La viscosité des solutions de protéïne n'est influencée par les électrolytes de la même manière que la pression osmotique et le gonflement, que dans le cas où de telles particules solides existent en nombre suffisant dans la solution et sont capables de se gonfler.

La viscosité des solutions de protéïne est avant tout fonction du volume relatif occupé par cette protéïne dans sa solution.

La différence de viscosité observée entre les solutions de gélatine et d'ovalbumine cristallisé p. ex. ne peut pas être attribuée à un degré différent d'hydratation des ions de ces deux protéïnes puisque au p. i. les protéïnes ne sont pratiquement pas ionisées.

Les solutions de gélatine contiennent des particules sub-microscopiques retenant des quantités d'eau relativement grandes. Ainsi le volume occupé par la gélatine dans sa solution s'en trouve accru.

De semblables particules sont absentes des solutions d'ovalbumine qui ne forment pas de gelée à la température ordinaire quand le pH est $> 1$.

Si le pH est $< 1$ et la température plus élevée, les solutions d'ovalbumine forment également une gelée et dans ce cas leur viscosité devient du même ordre de grandeur que celui des solutions de gélatine.

On comprend dès lors pourquoi le pH produit une variation de la viscosité des solutions de gélatine semblable à celle qu'il détermine sur les changements de la pression osmotique. Le gonflement étant un phénomène de nature osmotique, la viscosité des solutions d'ovalbumine ne subit pas pareille influence. Dans le cas de la gélatine au contraire il s'établit un équilibre de *Donnan* entre les particules solides de gélatine et une solution faible d'un sel de gélatine, de chlorure de gélatine p. ex.

La transformation en molécules et ions libres des particules sub-microscopique de gelée solide doit abaisser la viscosité et faire croître la pression osmotique d'une solution de gélatine; car ce sont les ions qui déterminent l'influence des électrolytes sur la pression osmotique; tandis que l'influence des électrolytes sur la viscosité dépend des particules sub-microscopiques capables de retenir l'eau dans leur trame.

*Résumé de la théorie de Lœb.*

Voilà donc en résumé la théorie de *Lœb;*

1° La chimie des colloïdes ne diffère pas de celle des cristalloïdes, au moins en ce qui concerne les protéïnes.

2° Les protéïnes vraies peuvent former de véritables solutions cristalloïdes bien que dans certains cas leur solution puisse contenir des agrégats moléculaires. La même substance peut prendre l'un ou l'autre état suivant la nature du solvant. Il est devenu courant de distinguer un état colloïdal et un état cristalloïde, mais ceci est également inexact. Ce qu'on doit distinguer ce sont les propriétés colloïdales et cristalloïdes d'une protéïne.

3° Les protéines se comportent comme des cristalloïdes en ce qui concerne leur combinaison avec les acides et les bases, et en ce qui concerne leur solubilité qui est plus grande à l'état ionisé.

Elles se comportent aussi comme des cristalloïdes en ce qui concerne les autres propriétés, la viscosité, la tension superficielle etc.

4° Les protéïnes se comportent comme des colloïdes dans certaines conditions déterminées à savoir:

Quand il existe un obstacle à la diffusion des gros ions mais non à celle des petits. Il s'établit une équilibre de *Donnan.* Les propriétés des protéines diffèrent alors de celles des cristalloïdes par l'influence qu'exercent les électrolytes sur certains de leurs caractères physiques. la pression osmotique et la viscosité de leur solution et le gonflement de leurs gels.

L'influence sur ces trois propriétés est identique et suit les règles suivantes:

A) L'addition d'une petite quantité d'acide ou de base à une protéïne prise au point i. e. accroît la pression osmotique et la viscosité des solutions de protéïne ainsi que le gonflement de leur gel jusqu'à une valeur maxima. Au-delà de celle-ci l'addition d'une quantité plus forte d'acide ou de base diminue la grandeur de ces propriétés.

B) L'influence des acides et des bases varie avec la valence de l'anion des acides et celle du cation des bases, à condition que l'on compare les solutions de protéines à pH égal et à concentration égale.

C) L'addition d'un sel neutre à une solution de protéine ionisée abaisse la pression osmotique et la viscosité de cette solution; elle diminue le gonflement du gel. L'action dépressive des électrolytes croît avec la valence de celui des ions du sel qui porte une charge de signe opposé à celui de l'ion de protéïne.

La théorie de *Lœb* qui explique la presque totalité des propriétés des protéïnes s'oppose nettement à toutes les théories qui

tendent à expliquer les propriétés des protéïnes par une chimie colloïdale particulière où l'adsorption élective joue le rôle principal *(Pauli)*. Elle exclue l'action spécifique des ions. Les anions d'une même valence ont une action semblable. Ce n'est que secondairement et pour d'autres propriétés que celles dites colloïdales que la nature de l'ion peut avoir une influence, comme p. ex. sur le gonflement de la caséïne. Toutefois il reste des réalités indiscutables dans les séries de *Hofmeister*. Des affinités pour l'eau dépendant de la composition chimique peuvent se superposer au phénomène osmotique simple.

Quelles que soient les modifications ou les corrections que devront subir certains points de détail de la théorie de *Lœb*, il n'en est pas moins vrai que sa conception de la nature colloïdale des corps constitue un progrès extraordinaire dans l'histoire de la physico-chimie des protéïnes. L'assimilation de la chimie colloïdale à la chimie générale a permis d'aborder l'étude quantitative de ces corps.

La théorie de *Lœb* forme la base de tous les travaux récents de l'école américaine sur les lois qui régissent les équilibres entre les divers constituants du sang.

---

## II. Equilibres physico-chimiques du milieu intérieur.[1]

Le sang étant d'après *Henderson* un système physico-chimique en équilibre, tous ses constituants sont entre eux dans une interdépendance étroite. Aucun ne saurait subir de modification sans amener aussitôt une variation correspondante de tous les autres.

Dans une série de travaux de haute valeur *Henderson* et ses collaborateurs d'une part et *Van Slyke* de l'autre ont établi depuis une dizaine d'années les lois qui régissent la composition du sang

Voici résumée brièvement la conception de *Henderson:* le sang des mammifères est composé de deux phases, les globules et le plasma. Les composants principaux du système sont au nombre de sept: l'eau, l'oxygène, l'acide carbonique; les acides et les bases; les protéines du sérum et les protéines des globules c'est-à-dire l'hémoglobine; tous intimement liés les uns aux autres.

Il convient donc d'étudier l'un d'eux, le $CO^2$, par exemple en fonction des autres variables, de l'eau des bases, des protéines. La

[1]) Nous avons emprunté la plus grande partie de cet exposé à l'article de *van Caulaert* Les Lois du Sang.

courbe de dissociation du gaz carbonique dans le sang exprime le rapport entre la pression partielle de ce gaz et le gaz contenu dans le sang; sa forme dépend de la composition du sang.

En effet l'eau qui règle la concentration des différentes substances est une des variables importantes. La dissolution du gaz dans l'eau est fontion de sa pression.

La présence de bases élève le niveau de la courbe des dissociation du $CO^2$. La diminution des bases ou l'augmentation des acides, éventualité réalisée dans l'acidose diabétique, déprime la courbe. Les variations du taux d'hémoglobine lui impriment également une allure particulière. La diminution de Hb l'aplatit, son augmentation la redresse. Les courbes des anémiques sont toujours très aplaties.

Les protéines interviennent également dans la configuration de la courbe. Le pH du sérum est normalement de 7,45 alors que le point iso-électrique des globulines et des albumines qui entrent dans la constitution des protéïnes est situé respectivement à pH 5.6 et 4,8. Les protéines se comportent donc comme des acides capables de fixer des bases. *Van Slyke* a consacré un grand nombre de travaux à cette question importante de la fixation des bases par les protéïnes du sérum que nous examinerons avec plus de détails en quelques instants.

Ces propriétés des protéïnes expliquent leur rôle de tampon. Quand on alcalinise un sang la courbe de dissociation du $CO^2$ a tendance à s'élever; mais, l'alcalinisation du sang augmente en même temps la quantité des bases fixées aux protéines; ces deux phénomènes antagonistes se neutralisent jusqu'à un certain degré et assurent de la sorte la fixité de la réaction du sang.

Mais il importe avant tout d'étudier le rôle de l'oxygène. C'est le mérite de *Haldane* d'avoir montré que pour une même pression du gaz carbonique, le sang réduit fixe plus de gaz carbonique que le sang oxygéné. Cette découverte de *Haldane* expliquée par *Henderson* par le fait que l'oxyhémoglobine est un acide plus fort que l'hémoglobine réduite, démontre que le contenu du sang en $CO^2$ est aussi fonction de l'oxygène; le mécanisme de la respiration est ainsi élucidé.

Le sang oxygéné au niveau du poumon diminue sa capacité en gaz carbonique et $CO^2$ s'échappe. Dans les tissus le sang se réduit, la capacité en gaz carbonique augmente et $CO^2$ passe des tissus dans le sang pour être charrié jusqu'au poumon.

On comprend ainsi les répercussions profondes qu'ont sur l'allure de la courbe de dissociation toutes les autres variables.

Le système physico-chimique sanguin est rendu encore plus complexe du fait de la différence de composition chimique et de concentration des deux phases. Seul le gaz carbonique se trouve à égale concentration dans les globules et dans le plasma.

Si la tension de $CO^2$ augmente, les chlorures et l'eau passent du plasma dans les globules et inversement. Ce phénomène d'abord observé par *Zunz* a pour effet la formation de bicarbonate dans le sérum dont la quantité est trois fois plus forte que celle qui se formerait dans le sérum isolé, placé dans des conditions identiques.

Trente ans plus tard *von Limbeck* observe qu'en saturant le sang avec de l'acide carbonique les globules se gonflent par le passage de l'eau provenant du sérum.

*Spiro* et *Henderson* ont étudié ces points dans leurs cellules artificielles par la dialyse à travers un sac de collodion et leurs expériences ont confirmé les observations de *von Limbeck*.

*Gurber* enfin a mis en évidence le fait important que la membrane globulaire n'est pas perméable aux bases, ni au K des globules, ni au Na du sérum alors que les ions bicarbonate et Cl diffusent librement.

Ainsi la répartition de l'eau, du Cl et des bicarbonates est fonction du gaz carbonique.

L'augmentation de la pression partielle du gaz carbonique entraîne une augmentation des bases du sérum et une diminution des bases des globules,

une augmentation de la teneur en eau des globules et une diminution de la teneur en eau du plasma et de son volume,

une augmentation du Cl globulaire et une diminution du Cl plasmatique. Mais la pression du gaz carbonique est elle même une fonction de l'oxygène du sang. Nous avons déjà vu en effet que le sang réduit fixe plus de $CO^2$ que le sang oxygéné.

L'interaction de tous ces phénomènes constitue la base du système de *Henderson:*

Puisque la répartition de l'eau, de Cl, de $Co^3Na^2$ est fonction de la pression du gaz carbonique;

et que la pression du gaz carbonique est elle même fonction de la pression de l'oxygène;

il en résulte, en dernière analyse, que la répartition de l'eau, du Cl et du $CO^3Na^2$ est fonction de la pression de l'oxygène.

En maintenant invariable la pression du $CO^2$, l'addition d'$O^2$ au sang est suivie du passage de Cl des globules vers le plasma et inversement *(Mc. Lean)*.

La théorie de *Henderson* prend toute son importance du fait qu'une corrélation aussi étroite entre les variables, s'exprime par des lois quantitatives. Il suffit de connaître les valeurs de quelques-uns des constituants du sang pour pouvoir en déduire la valeur de tous les autres.

*La combinaison des bases aux protéïnes.*

Ce sont ces lois que les études expérimentales et mathématiques de *Van Slyke* ont établies. Son expérimentation rigoureuse lui a permis de calculer les facteurs constants et d'énoncer les formules qui règlent les variables en fonction les unes des autres.

Les déductions mathématiques qui conduisent à ces lois reposent sur un certain nombre de prémisses que *Van Slyke* considère comme démontrées par l'expérience:

1° Il n'y a pas de différence de pression osmotique entre les globules et le sérum (la forme des globules prouve qu'il ne s'exerce pas de pression à l'intérieur).

2° Dans les globules comme dans le sérum les charges positives des cations alcalins sont compensées par les charges négatives des anions représentés par les protéïnes non diffusibles et les anions diffusibles Cl et bicarbonate.

3° Les ions intervenant efficacement dans la pression osmotique sont ceux qui existent en grande quantité dans le sang. Ils sont tous monovalents: K — Na — $HCO^2$. Le taux du Ca — Mg — $SO^4$ est si faible qu'on peut négliger pratiquement ces ions.

4° Seule parmi les protéines sanguines l'Hb exerce une action sur la pression osmotique. Les membranes des globules sont imperméables aux protéïnes et aux bases.

5° Enfin, fait capital pour notre étude, les protéïnes du sang ont une fonction acide;

par conséquent, l'équilibre de *Donnan* s'applique au système du sang.

En partant de ces données *Van Slyke* a établi des formules qui permettent de déduire d'un nombre de variables données toutes les autres. Il a étudié les changements quantitatifs des variables interdépendantes.

Nous avons vu plus haut que par le passage d'un courant de $CO^2$ à travers le sang qui abaisse son pH, une certaine quantité d'eau sérique passe dans les globules dont le volume augmente. *Warburg* a montré que les variations du volume globulaire et sérique étaient des fonctions linéaires du pH.

De même le rapport $\frac{\text{Cl glob.}}{\text{Cl plasm.}}$ est fonction du pH.

Si on applique la loi de *Donnan* aux ions monovalents diffusibles on obtient 1)

$$\frac{(H^+)_s}{(H^+)_c} = \frac{(Cl)_c}{(Cl)_s} = \frac{(H\,C\,O\,3)_c}{(H\,C\,O)_s} = \frac{(O\,H\,-)_c}{(O\,H\,-)_s} = r$$

Les symboles entre parenthèses représentent les *concentrations* des ions dans les globules et le plasma. On voit ainsi que

le passage de $CO^2$ à travers le sang, abaissant le pH produit un déplacement du Cl plasmatique vers les globules qui s'accompagne toujours d'un déplacement dans le même sens d'une certaine quantité d'eau.

*Van Slyke, Wu* et *Mc. Lean* ont montré que les variations de ces rapports sont une fonction linéaire du pH et que les variations sont quantitatives.

La question qui nous intéresse plus spécialement concerne la quantité de bases fixées aux albumines, que *Van Slyke* a calculée.

En dialysant le mélange des protéïnes et des bases du sang, mises en solution à des pH de plus en plus bas, *Van Slyke* dose la quantité des bases qui traverse la membrane de collodion du dialyseur, c'est-à-dire celle qui n'est plus fixée sur les protéïnes. Il constate que les quantités de bases fixées aux protéïnes augmentent à mesure que s'élève le pH du sang.

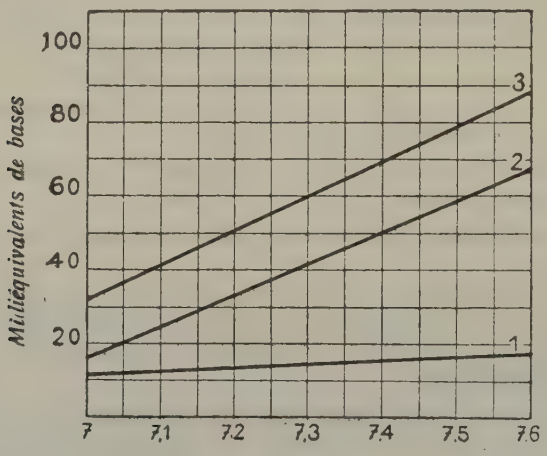


Fig. 2. — *Bases fixées aux protéines du plasma et des globules en fonction du* $p^H$.

1. Protéine sérique.
2. Hémoglobine réduite.
3. Hémoglobine oxygénée. *(v. Slyke)*

On voit sur la courbe que la quantité de bases fixée sur les protéïnes sériques est de beaucoup inférieure à celle qui se trouve combinée à l'hémoglobine. Ceci revient à dire que les protéïnes sériques ont un pouvoir tampon plus faible que Hb.

Des formules traduisent l'allure de cette courbe. *Van Slyke* a établi pour le sang de cheval les relations suivantes:

$$(B\ P)_s = 0.68\ (P)_s\ (p\ H_s - 4{,}80)$$
$$(B\ P)_c = 3.61\ (Hb)_c\ (p\ H_c - \begin{matrix}\rightarrow 6{,}6\\ \rightarrow 6{,}74\end{matrix})\ ^{1)}$$

Dans ces formules (BP)s et (BP)c expriment les bases liées aux protéines sériques et aux protéines globulaires; 0,68 et 3.61 sont des facteurs constants qui expriment la différence entre le pouvoir tampon de l'Hb et des protéines sériques; 4,80; 6,6 et 6,74 correspondent aux p. i. de la sérum albumine, de $Hb^0$) et de Hb. Il résulte de cette formule qu'au point iso-électrique le dernier terme s'annule; à ce point la protéine ne fixe ni acide ni bases.

Plus récemment *Van Slyke* a établi les rapports entre la quantité des bases liées aux protéïnes et le pH, séparément pour l'albumine et la globuline du sérum de cheval de pH 6,8 à pH 7,8. A l'intérieur de ces variations physiologiques du pH les rapports correspondent également à une variation linéaire.

De même pour le sérum du sang humain, la quantité de Na combinée aux protéïnes correspond assez exactement (dans une limite de 6%) aux quantités calculées pour l'albumine et la globuline du cheval à condition toutefois qu'on admette l'identité des protéïnes du sérum humain et du sérum de cheval. On voit que *Van Slyke* est parti de l'hypothèse que la composition des protéïnes du sérum reste constante.

---

## III. Les complexes protéiques du sérum.

Il nous a semblé intéressant de vérifier l'exactitude de cette hypothèse dans les cas pathologiques en étudiant les combinaisons des ions aux protéïnes du sérum par le procédé de l'ultrafiltration.

*La théorie des complexes de Vlès.*

A la suite de travaux récents, dus notamment à *Vlès* et ses collaborateurs, il est apparu que le point iso-électrique des protéïnes sériques, caractéristique pour une espèce de protéïne déterminée, ne conservait pas toujours une place fixe dans l'échelle des pH. Certains travaux entrepris à la clinique de notre regretté maître parlent aussi dans ce sens.

Nous résumerons rapidement les intéressantes études de *Vlès et De Coulon* et de leurs élèves. Elles ont pour point de départ

---

[1]) Les symboles s, c., B, P, expriment: s serum; c globules (celle); B somme des bases P protéines.

la conception de complexes protéïniques très mobiles et très fragiles dont l'ensemble constitue les protéïnes du sérum.

Un mélange de deux ampholytes A et B pourra, en fonction du pH, donner lieu à la formation de complexes.

Soit l'ampholyte OH—R—H de constantes Ka et Kb pour les valeurs acides et basiques de p. i. pHiA et l'ampholyte OH-R'-H de constantes K'a et K'b et de point isoél. pHiB (plus haut que pHiA).

Les deux ampholytes A et B auront des charges positives pour les pH inférieurs à leur pHi respectifs, des charges négatives pour les pH supérieurs à leur pHi.

Au-dessous de pHiA tous deux sont positifs (cation $^{+}$ RH et + R'H); au-dessous de pHiB ils seront tous deux négatifs (anion — OHR et — OHR'). Ils ne pourront être de signes inverses que dans une zône Z comprise entre pHiA et pHiB. Les deux formes existant alors l'anion OH—R et le cation HR' pourront être susceptibles de former un complexe (1) OH—R—R'H dissociable aux deux extrémités en fonction du pH avec deux constantes K'a et Kb (et également aux deux moitiés) ou même éventuellement en mettant en jeu les valence les moins dissociables, tant qu'elles le sont encore, un autre complexe (2) OH—R'—RH dissociable par ses deux extrémités avec des constantes Ka et K'b. Mais cette combinaison peut conduire à des conditions d'impossibilité.

Ces complexes sont eux-mêmes des ampholytes et auront donc à leur tour des pHi particuliers où ils jouiront des propriétés, spéciales à ce point; ils auront notamment un minimum de solubilité.

Il faut remarquer que le complexe total ne peut être formé et rester cohérent qu'au voisinage immédiat du pHi résultant global. En cas de variations du pH du milieu extérieur il cesse d'être complètement cohérent et les éléments risquent de se détacher un à un de la masse indivise, à mesure que le pH dépassera le pHi d'un des constituants. Le complexe d'ampholytes ne doit donc avoir dans l'échelle des pH qu'un domaine d'existence limitée. La variabilité de la composition de ces complexes par suite du moindre changement du pH extérieur, rend très improbable l'existence de la globuline et de l'albumine, en tant qu'entités chimiques. Isolables in vitro les constituants protéiques du sérum (globuline, euglobuline, paraglobuline, albumine, etc.) doivent être associés, in vivo et dans certaines conditions de pH, impossibles à séparer les uns des autres. Ces colloïdes forment vraisemblablement des complexes, les charges des uns neutralisant partiellement les charges des autres. Les éléments se collent et se protègent mutuellement au hasard des rencontres des électrolytes en un certain nombre de complexes plus ou moins fragiles, plus ou

moins complets «que le chimiste décortique en quelque sorte pour en extraire, voire par la simple précipitation, telle ou telle albumine et telle ou telle globuline».

Le territoire d'existence de ces complexes est assez restreint dans l'échelle des pH puisque dès que l'on dépasse le p. i. d'un des constituants du complexe, celui-ci se séparera de la combinaison.

Les points iso-électriques des principaux éléments du plasma ou du sérum sont échelonnés entre 4,5 et 7, celui du fibrinogène seul étant plus élevé.

Le pH du plasma circulant est entre 7 et 8 et se trouve par conséquent sur le bord d'une zône de cohérence dans laquelle l'un quelconque des constituants peut rentrer ou dont il peut sortir plus ou moins suivant les variations physiologiques ou pathologiques du pH. Cette hypothèse des plus attrayantes est la résultat de plusieurs centaines d'analyses de sérum humains normaux et pathologiques.

Le point iso-électrique a été déterminé par la cataphorèse suivie de la précipitation par alcool-acétone. Le mélange étant laissé au repos pendant 24 heures il se forme soit des précipités, soit des flocons. Ceux-ci paraissent plus importants d'après leur relation avec la cataphorèse. Chez l'homme normal il existe au point de vue des flocons trois points iso-électriques dont deux dans les limites du pH utilisé. Ils sont situés en général entre pH 5 à 12; α au voisinage de 5,5 paraît stable comme position; il ne dépasse jamas ni 5 ni 6.

La point β moins stable est plus élevé. Il se trouve habituellement entre pH 11 à 12, mais peut descendre jusqu'à 9.

γ déterminé par extrapolation est inférieur à 5. On peut soupçonner un 4e point iso-électrique δ qui serait situé au-delà de pH 12. Le sérum laissé pendant 24 heures ne montre pas de changement de ces points.

Chez la femme les points iso-électriques changent de place avec les variations de la vie génitale. Chez les filles vierges α très stable est à 5,5. β n'est pas décelable. Le point α est décalé entre pH 6,5 et 7,5 chez les femmes non enceintes. Le sérum de la femme enceinte se distingue par l'irrégularité du point α variant entre pH 5,5 et 7,5. β est toujours présent entre pH 8—12, mais très irrégulier. Dans les conditions pathologiques la principale caractéristique est le décalage qui porte sur les points iso-électriques. α tente à disparaître de la zône de pH où il serait normalement placé. Le décalage est produit par le jeu de mécanismes différents soit par élévation vers les forts pH, soit par abaissement vers les pH faibles, soit enfin par la disparition complète. Souvent dans des cas graves où se produit la disparition du point iso-électrique la mort intervient à bref délai.

D'une manière générale la sortie de α de la zône normale par élévation vers les forts pH est une constante caractéristique des infections aigües au cours d'état (100%), très fréquentes dans certaines syphylis (homme 93%); cette élévation est moins accentuée et moins régulière dans la tuberculose et le cancer (60%). Chez les cardiaques α peut être très élevé; des fois le point est absent. Dans trois cas α manque,mais c'est ß qui peut être abaissé et enfin dans 4 cas de néphrite (femme) la situation des points est normale; dans un cas de néphrite (homme) α est aux environs de pH 7,5.

Ce résultat acquis par l'analyse de 400 sérums environ confirme donc la notion des complexes protéïniques du sérum dont la composition est très variable dans les différents cas pathologiques.

*Recherches personnelles.*

Par l'étude de sérums normaux et pathologiques au moyen du procédé de l'ultrafiltration entreprise depuis juillet 1928 nous nous sommes proposé de rechercher la variation de composition des protéines du sérum humain dans différents cas pathologiques. Nous sommes arrivés à ce résultat: que les protéïnes peuvent exister en pathologie sous trois formes dans le sérum:

à l'état iso-électrique,
à l'état de sel acide de protéine,
à l'état de protéïnate métallique

dont le point iso-électrique est décalé vers les pH faible. On rencontre enfin la coexistence de sel acide et de protéinate métallique. Nous étudions dans le chapitre suivant la technique et l'appareillage de l'ultrafiltration; nous exposerons ensuite les résultats obtenus sur 140 sérums tant normaux que pathologiques.

Chapitre II

## Appareillage et Technique.

D'après les considérations qui précèdent il était permis d'espérer que l'étude de la distribution des ions entre les protéïnes sériques et le sérum permettrait de résoudre le problème que nous nous sommes posé. Il s'agissait de suivre la répercussion des états pathologiques sur la réaction des protéïnes, en étudiant simultanément leur combinaison avec les acides et les bases.

Deux méthodes de choix, habituellement employées, permettent d'aborder l'étude du problème: celle de la dialyse et celle de l'ultrafiltration. C'est à cette dernière que nous avons eu recours à cause de la simplicité du procédé, de la régularité des résultats, et de la durée relativement courte de chaque expérience. La dialyse de compensation exige en effet la compensation de *chaque espèce de molécule et d'ion* dans le liquide extérieur, pour éviter l'échange d'ions à l'intérieur du sérum. Une compensation complète est presque impossible. Il n'y a que *Mestrezat* qui ait pu la réaliser en renouvelant constamment le sérum. Or, dans l'ultrafiltration cette condition est automatiquement réalisée; d'où la supériorité indiscutable de cette méthode sur la dialyse de compensation. Aussi, la combinaison des deux procédés, qu'ont imaginé *Updergeraaf, Grunberg* et *Clark* et qu'ils réalisaient par l'ultrafiltration contre un liquide extérieur, paraît-elle superflue.

La théorie de l'ultrafiltration a fait l'objet de nombreux travaux, tant expérimentaux que mathématiques. Le principe consiste à établir la quantité d'un ion, en partie dissout à l'état cristalloïde, en partie fixé sur un colloïde, par la mesure de sa concentration dans la solution et dans l'ultrafiltrat, une des grandeurs étant fonction de l'autre. Mais pour obtenir des résultats quantitativement exacts il faut considérer l'influence d'autres facteurs tels que: le volume propre des colloïdes, la proportion de l'élément fixé, l'équilibre de *Donnan,* l'effet de *« l'erreur de membrane »*. Pour peu que la quantité fixée soit faible, elle pourrait être dissimulée par le jeu combiné de ces effets pendant la filtration. Des formules simples établies par *Palany,* développées par *Augsberger,* permettent de corriger les erreurs résultant de l'intervention de ces facteurs.

Toutefois, pour l'analyse qualitative de la distribution des ions, l'ultrafiltration est la méthode la plus sûre, sans qu'il soit nécessaire d'appliquer ces corrections. Il suffit que l'appareillage

et la technique soient réglés de façon à éviter les sources d'erreurs les plus importantes. C'est ce que nous avons essayé de réaliser avec notre appareil d'ultrafiltration.

Le procédé d'ultrafiltration consiste à faire passer sous pression négative ou positive une solution contenant des substances en partie à l'état colloïdal et en partie à l'état cristalloïde à travers une membrane imperméable aux colloïdes. Les ions combinés aux protéines sont, de ce fait, retenus à leur tour.

On admet que les membranes-filtrantes sont assimilables à un faisceau de tubes capillaires; la filtration suit les mêmes lois que l'écoulement à travers les tubes capillaires, en ce qui concerne l'influence de la pression et de la température. *Duclaux* et *Errera* constatent en outre que la vitesse de filtration des divers liquides est en raison inverse de leur viscosité. Ils en concluent que la membrane ultrafiltrante se comporte comme un faisceau de tubes capillaires rigides dont la structure est indépendante de la nature du liquide qui la baigne.

*Bechhold* qui a préconisé cette méthode, a montré qu'il existe un parallélisme entre la filtrabilité et la grosseur des ultramicrons. Il a établi tout un jeu d'ultrafiltres à mailles de plus en plus serrées, qui permettent de classer, suivant la taille de leurs ultramicrons les différentes substances. Dans sa série la gélatine, l'hémoglobine à 1%, la sérum-albumine se suivent.

Mais le phénomène n'est pas simple. Certains ultramicrons ne traversent pas une membrane dont les pores ont pourtant un diamètre plus grand qu'eux dans le tableau de *Bechhold*. En effet, outre la dimension des particules, l'adsorption par la membrane régit aussi la filtrabilité. Avant de procéder aux mésures il faut donc déterminer le degré d'adsorption par la membrane du colloïde étudié.

Le passage de la solution produit une obstruction progressive des pores. *Augsberger* a pu établir un rapport entre la vitesse de filtration et la quantité de solution ayant passé la membrane: ces quantités sont inversement proportionnelles. L'eau distillée, de même que l'eau déjà ultrafiltrée produisent le même phenomène. Pour l'expliquer le fait, on a invoqué des phénomènes de polarisation dont les pores seraient le siège.

*Exemple:*

| | Temps de filtration. | | |
|---|---|---|---|
| 1er jour | 14 à 15 hrs | 2 cm³ | 2 cm³ par heure |
| | 15 à 20 hrs | 8 cm³ | 1 cm³ 6 par heure |
| 2ième jour | 20 à 9 hrs | 10 cm³ | 0 cm³ 9 par heure |

Le nombre des variantes qu'on a fait subir au procédé initial de *Bechhold* est considérable *(Bechhold; Giemsa; Zsigmondy, Bachmann; Blum, Hirth* et *Delaville; Wilenski; Risse).*

La méthode employée au laboratoire de la Clinique pour étudier l'état des minéraux dans le sang (*Blum, Delaville* et *Van Caulaert* 1924 à 1925) est empruntée à Giemsa.

La filtration se fait par aspiration constante à une pression d'environ 150 mm Hg. La bougie filtrante plonge dans le sérum maintenu en rotation lente.

Pour la fabrication du filtre et l'imprégnation de la bougie on utilise, suivant l'indication de *Bechhold,* des solutions de collodion dans l'acide acétique. L'examen miocroscopique des différentes couches montre une homogénéïté parfaite; le collodion acétique employé est à une concentration de 10%. La membrane est imperméable aux protéïnes. La quantité de sérum nécessaire pour une filtration est d'environ 50 cc.

Mais, la filtration par aspiration expose, par la diminution passagère de la pression, accident très fréquent, au danger d'évaporation que l'addition de chloroforme n'évite pas sûrement. La filtration se fait en outre trop lentement et le sérum risque de se contaminer. Pour des analyses en série, la quantité de sérum nécessaire, est beaucoup trop grande.

Pour ces motifs la filtration sous pression présente une supériorité indiscutable. Employée premièrement par *Lucke* elle pare à la plus grande partie des inconvénients. *Augsberger* a construit d'après ces principes un appareil très simple rattaché par un tube à pression à une bombe d'azote. La pression s'exerce à travers le liquide à filtrer sur une bougie de Giemsa renversée dans l'appareil. La filtration est notablement accélérée, toute évaporation est rendue impossible, chaque goutte de filtrat peut être prélevée à part, plusieurs appareils peuvent être rattachés à la même bombe.

Mais cet appareil emploie, comme jointure, du caoutchouc qui est en contact direct avec le liquide à filtrer. Il faut maintenir avec des ficelles la bougie à l'intérieur de l'appareil, et répéter cette opération à chaque filtration. Il faut de même, pour remplir l'appareil, détacher chaque fois le tube à pression, fixé par un fil de fer. Il est donc très incommode d'entreprendre des filtrations en séries.

Nous avons imaginé un appareil [1]) filtrant sous pression qui écarte tout danger d'évaporation. Il évite tout contact entre un corps étranger quelconque et le liquide; facile à manier, à nettoyer et à stériliser, il permet d'interrompre rapidement, et à tout moment la filtration.

---

1) Constructeur: *Ch. Volck*, verrerie scientifique, Strasbourg.

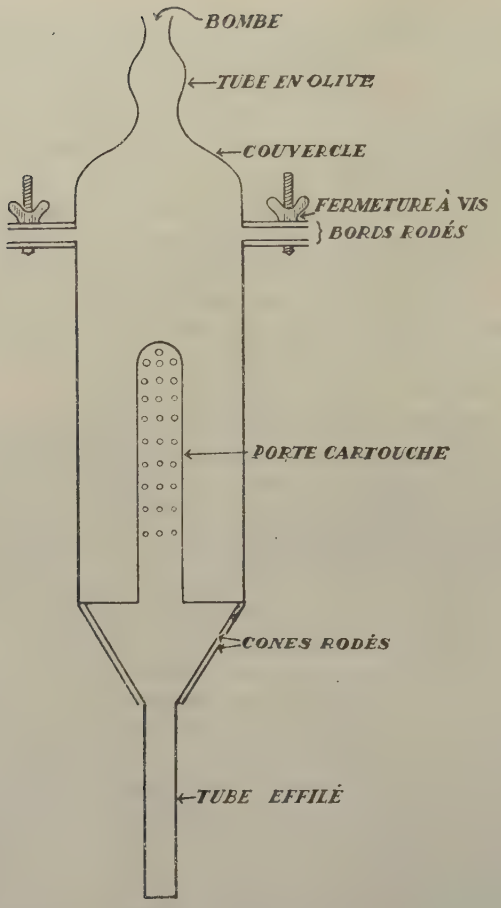


*Fig.*

***APPAREIL D'ULTRAFILTRATION***

Fig. 3

En voici les caractéristiques:

L'appareil se compose (figure 3):

d'un manchon en verre (hauteur 12 cm, diamètre 33 mm) portant à sa partie supérieure un rebord rodé et terminé à sa partie inférieure par un cône également rodé à l'intérieur;

d'un couvercle à fermeture rodée qui se termine par un tube à olive sur lequel se fixe le tube à pression rattaché à la bombe d'azote. La fermeture se fait à l'aide d'une monture métallique à vis et de bagues de caoutchouc qu'on interpose entre la mon-

ture et le verre d'une part, et, d'autre part entre le couvercle et le manchon. Le filtre porte cartouche en verre est perforé de 80 trous sur sa partie cylindrique; celle-ci s'élargit à la base en un cône rodé qui s'adapte exactement sur le cône du manchon. Le cône lui-même se termine en tube effilé qui permet de saisir la bougie et de la fixer sur le manchon. L'étanchéité ainsi obtenue est parfaite. La membrane est préparée d'après la méthode usuelle de *Giemsa* avec du collodion acétique à 10%.

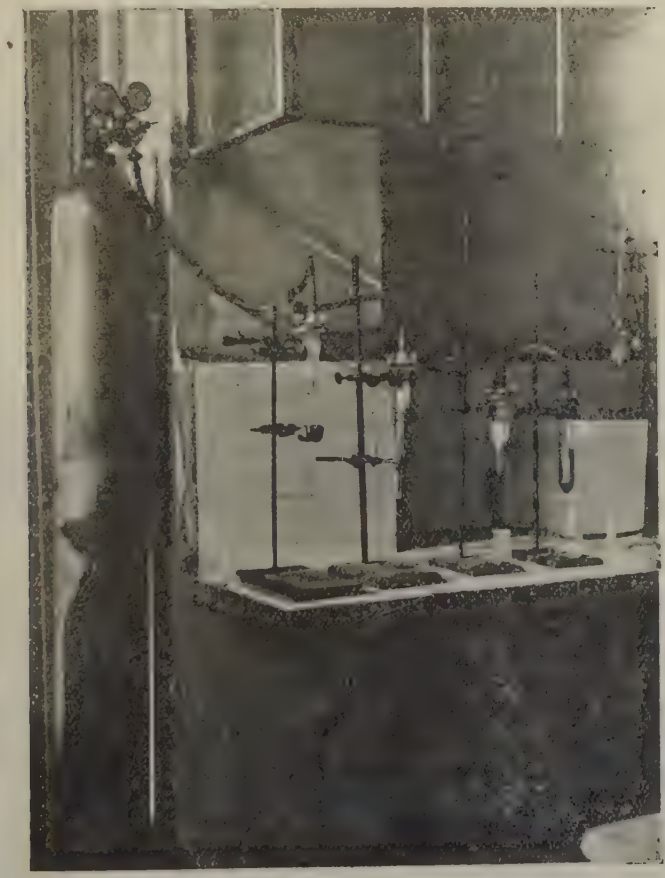

**Fig. 4**

La bougie munie de sa cartouche est humectée avec la pissette et plongée ensuite dans le collodion acétique. On laisse égoutter le collodion et en roulant doucement la bougie on l'étale régulièrement en couche mince. On répète cette opération à trois reprises en laissant sècher le collodion dans l'intervalle pour que

les mailles ne soient pas trop serrées. Les albumines traversent la membrane dès que la concentration du collodion tombe au-dessous de 7%.

Avant d'employer l'appareil pour les expériences sur le sérum, il est indispensable d'éliminer les erreurs inhérentes à la méthode.

Nous filtrons tout d'abord une solution titrée de chlorure de sodium contenant 3 g 10 de chlore et 2 g de sodium. Les ions Cl et Na se retrouvent entièrement dans l'ultrafiltrat.

Comme l'a conseillé *Bechhold* nous avons, pour exclure l'adsorption par la membrane, fait l'expérience suivante:

Nous plaçons dans un tube quelques morceaux de la membrane filtrante et nous y ajoutons le sérum à filtrer. Nous agitons le tube pendant quelques heures, dosons les ions, mesurons l'indice de réfraction et le pH dans le sérum avant et après l'agitation.

Sérum du malade Ed... (Sciatique).

| | Sérum initial | après 10 heures d'agitation |
|---|---|---|
| Chlore . . . . . | 3.61 | 3.60 |
| Na . . . . . | 3.48 | 3 43 |
| pH . . . . . | 7.34 | 7.34 |
| Indice de Réfraction (I. R.) . | 56 | 56 |

Il n'y a donc pas eu d'adsorption par la membrane filtrante. Ce fait est conforme aux données de *Bechhold* qui n'a jamais observé de phénomènes d'adsorption dans ses expériences sur la sérum-albumine, la globuline, l'hémoglobine et la caséïne.

Le point le plus important de la méthode est déviter l'erreur résultant de l'eau contenue à l'intérieur de la membrane, qui risque de diluer le résidu et l'ultra-filtrat et, dans certains cas, de changer le pH.

C'est pourquoi il faut saturer d'abord la membrane. Nous procédons pour le colmatage de la manière suivante: nous lavons le filtre avec de l'eau bidistillée neutre jusqu'à ce que l'ultrafiltrat acide au début, devienne neutre. Nous faisons passer ensuite deux à trois cmc du sérum à filtrer que nous rejetons ensuite Nous remplissons l'appareil à nouveau et ultrafiltrons. Nous recevons maintenant l'ultrafiltrat dans une éprouvette propre et sèche adaptée soigneusement à l'appareil de manière que le tube terminal de la bougie plonge à l'intérieur de l'éprouvette. Ainsi tout danger d'évaporation de l'ultrafiltrat est évité.

Contrairement à l'opinion de *Netter* qui conteste la possibilité d'une composition constante du liquide filtrant, parce que la concentration du sérum mis à filtrer augmente progressivement ce qui conduirait à la concentration de plus en plus forte du

liquide intermicellaire, nous avons obtenu assez rapidement des ultrafiltrats de composition absolument constante.

| Sérum | I | II |
|---|---|---|
| Cl. du serum . . . . . | 3.40 | 3.41 |
| U. F. après 3 heures . . . . . | 3.42 | 3.43 |
| U. F. „ 10 „ . . . . . | 3.43 | 3.41 |
| U. F. „ 16 „ . . . . . | 3.42 | 3.40 |

On remarquera en passant que pendant ces 16 heures il n'y a eu aucune évaporation de l'ultrafiltrat.

Sérum normal

| | I | II |
|---|---|---|
| Cl. du sèrum . . . . . | 3.53 | 3.52 |
| U. F. après 1 heure . . . . | 3.49 | 3.47 |
| U. F. après 2 heures . . . . | 3.53 | 3.53 |
| U. F. „ 7 „ . . . . | 3.52 | 3.54 |

A partir de ce moment on laisse l'éprouvette découverte.

U F. après 14 heures 3.67 3.65

On voit que l'évaporation peut considérablement influencer les résultats.

En général, on obtient, suivant la qualité du filtre, des résultats constants après une heure et demie.

Les résultats restent identiques quand on fait passer le même sérum par deux filtres différents, fabriqués d'après le même procédé.

Sérum normal Indice de Réfr. 55 Sérum : Cl : 3.75

| | | U. F. I | U. F. II |
|---|---|---|---|
| après | 2 heures . . Cl . . . . . | 3.74 | 3.74 |
| | 3 „ . . . . . | 3.77 | 3.77 |
| | 4 „ ½ . . . . . | 3.74 | 3.73 |
| | 24 „ . . . . . | 3.78 | 3.78 |

Pratiquement on ne constate pas d'influence due à l'équilibre de *Donnan;* quoique les variations du pH soient minimes dans le sérum, puisqu'elles se meuvent entre pH 7,8 à 6,8, la distance du p. i. est tellement grande qu'on devrait prendre en considération l'effet Donnan. Il faut admettre qu'il est couvert par les erreurs relatives des analyses.

Les expériences préliminaires terminées on est en droit d'affirmer qu'avec l'appareil que nous employons, la méthode de l'ultrafiltration donne des résultats fidèles et permet d'aborder l'étude de la distribution des ions dans le sérum normal et pathologique. Nous prélevons 25 à 30 cc de sang que nous centrifugeons aussitôt. Pour la détermination du pH nous avons prélevé une

grande partie des échantillons sous une couche d'huile de paraffine.

*A. Ultrafiltration.*

Nous prélevons 10 cc de sérum pour l'ultrafiltration. Nous en filtrons d'abord 3 cmc que nous rejetons avec son ultrafiltrat. Nous remplissons l'appareil à nouveau avec les 7 cmc restants. Nous nous assurons d'abord que le filtrat ne contient pas d'albumine en y ajoutant de l'acide trichloracétique et en le chauffant dans une tube à essai. On met la filtration en marche et après 2 heures on prélève l'ultrafiltrat pour les dosages.

*B. Mesure du pH.*

Nous avons mesuré le pH de tous les liquides filtrés par la méthode des indicateurs. Quoique sujette à caution, quand il s'agit de liquides colorés comme le sérum et ne fournissant que des valeurs approchées, cette méthode nous a paru suffisante pour les besoins de notre étude.

Il nous importait, en somme, uniquement de connaître l'écart plus ou moins grand entre la réaction actuelle du sérum et le p. i. de ses protéïnes. L'erreur sur le pH pouvait, sans conséquence aucune pour les résultats de nos recherchers, atteindre ± 1,0.

Il est important d'insister sur l'interprétation des résultats obtenus par la méthode colorimétrique pour répondre d'emblée aux objections justifiées que soulève l'application de ce procédé au cas du sérum.

Les indicateurs sont des substances diversement colorées, suivant la réaction du milieu, la variation de concentration des ions H amenant un changement de leur couleur. Ils correspondent à deux concentrations différentes en ions H, les deux teintes restant fixes en-dessus et en-dessous de ces valeurs. mais présentant tout une gamme de teintes sensibles à l'intérieur de ces limites. La série employée par *Clark* comprend une dizaine de couleurs dont la zône utile s'étale entre pH = 2 et pH = 10 et dont le virage est très net.

Pour connaître les limites entre lesquelles se trouve le pH cherché on additionne à une goutte de sérum une goutte d'un indicateur choisi parmi ceux dont l'erreur protéique et l'erreur saline sont le plus faible possible et dont le virage correspond aux valeurs moyennes de la concentration ionique supposée.

Cette première approximation, une fois obtenue l'emploi de la méthode des solutions tampons *(Soerensen))* avec les indicateurs de *Clark* permet de préciser d'avantage le pH. On a recours à des substances qui, par des mélanges appropriés donnent les différentes concentrations voulues en ions H. On prépare un mélange d'acides faibles avec leur sel. Aux solutions de ces régulateurs on ajoute des quantités égales d'indicateurs et on compare les nuances obtenues. Aux nuances égales correpondent des concentrations égales en ions H. Des mélanges d'acide acétique et d'acétate, d'ammonique et de chlorure d'ammonium, de phosphate mono- et bisodique ont été employés.

Le point délicat de la méthode consiste dans l'appréciation des nuances. Pour plus de sécurité on se sert d'un comparateur de *Walpole*.

On obtient, rapidement des résultats satisfaisants à condition de faire la mensuration à la lumière du jour. L'appréciation subjective des couleurs se fait très régulièrement avec un peu d'habitude.

Le plus grave inconvénient est constitué par l'erreur protéique, le sérum représentant une solution particulièrement riche en protéïne.

Toutefois la série des indicateurs établie par *Clark* réalise un véritable progrès de la méthode. Ce sont eux que nous avons employés.

Le pH d'un sérum, pendant la durée de l'ultrafiltration, reste à peu près constant contrairement aux observations de *Hirth* et *Tchimber*.

| 1. jour heures | Sérum Cl | Sérum $p^H$ | Ultrafiltrat Cl | Ultrafiltrat $p^H$ |
|---|---|---|---|---|
| 12 | 3.55 | 7.3 | 3 55 | 8,2 |
| 14 | | 7,3 | | 8,2 / (8,3 ?) |
| 15 | | 7,3 | | 8,2 / (8,3) |
| 16 | | 7,3 | | 8,2 / (8,3) |
| 17 | | 7,3 (—?) | | |
| 2. jour 10 heures | | 7,3 (—) | | 8,2 / (8,3) |

Pour établir le p. i. des protéïnes d'un sérum déterminé, nous portons un même échantillon à des pH différents, s'échelonnant entre pH = 7,2 et 4. Nous ultrafiltrons successivement une partie de cet échantillon à chacun des pH et nous dosons le Cl. et le Na dans le sérum et l'ultrafiltrat correspondants.

Soit un sérum normal de pH = 7,3; par addition de 2 cc d'acide lactique concentré à 30 cc de sérum, nous le portons au pH 4. Nous en ultrafiltrons 10 cc et par addition progressive de NaOH, nous faisons passer le liquide successivement au pH 5, pH 6, et nous ultrafiltrons également chaque échantillon. Le chlore retenu au pH 4 redevient ultrafiltrable vers pH 6 et ainsi le caractère réversible de la réaction est prouvé. Nous procédons de la même manière pour déterminer le p. i. des protéïnes sériques modifiés.

### *C. Chlore.*

Nous avons dosé le chlore dans le sérum et l'ultrafiltrat par la méthode de *Carius* et la méthode de *Grabar*.

Dans la première, les matières organiques sont brûlées par l'acide nitrique, le chlore est précipité par l'azotate d'argent et le chlorure d'argent filtré sur filtre de *Pregl*, puis pesé. Le procédé de *Grabar* est colorimétrique. Il fournit des résultats très fidèles. La méthode présente le grand avantage de nécessiter seulement 0 cc 5 de sérum. Un dosage demande à peu près un quart d'heure. La valeur normale duCl du sérum est de 3 g 50‰ en moyenne.

| | Cl sérum | Cl. U. F. |
|---|---|---|
| Methode de CARIUS | 3,50 | 3.50 |
| Methode de GRABAR | 3,49 | 3,50 |

*D. Sodium.*

Le sodium a été dosé par la méthode de *Grabar,* qui est une application des principes de la méthode de *Blanchetière* avec cette modification que les phosphates sont précipités et qu'elle emploie la combustion par voie humide pour l'obtention des cendres; on évite ainsi les pertes qu'entraîne la combustion sèche. L'erreur relative de la méthode ne dépasse pas 3%. On peut doser avec grande précision des quantités de sodium de O mg 5 à 3 mg; les prélèvements courants sont de O cmc 5. La valeur normale du Na du sérum est de 3 g 27°/₀₀ en moyenne.

*E. Calcium.*

Nous avons employé la méthode de *Hirth.* La technique est longue et minutieuse, mais à l'heure actuelle elle est seule à donner des résultats vraiment précis et fidèles. Le calcium est précipité à l'état d'oxalate après élimination du fer et de l'acide phosphorique. L'oxalate est incinéré: on obtient ainsi de la chaux qu'on dissout dans un excès de HCl titré. On détermine cet excès par acidimétrie. La quantité de sérum nécessaire pour ce dosage est de 5 cmc. La valeur normale du Ca du sérum est de 110 mg°/₀₀ en moyenne.

*F. Indice de réfraction.*

L'indice de réfraction (I. R.) a été établi avec le réfractomètre de *Pulfrich.*

I. R. du sérum normal entre 52 et 56 correspondant à environ 8 g.°/₀ de protéïne.

*G. Réserve alcaline.*

La réserve alcaline (R. A.) est la quantité de gaz carbonique mesurée dans les conditions normales de pression et de température c. à d. sous 760 mm de Hg et à O°, contenu dans 100 cc de plasma. Elle a été déterminée selon la méthode de *Van Slyke.* Il a été important d'établir la nature des rapports entre les modifications des protéïnes sériques et l'équilibre acide-base envisagés par certains auteurs (*L. Blum, Delaville* et *Van Caulaert)*

Un grand nombre de filtrations et de déterminations de pH a été pratiqué à l'étuve à la température de 37° sans que nous ayons observé des différences notables avec les résultats obtenus à la température ordinaire de laboratoire.

Chapitre III

## La Modification des Protéines du Sérum.

De nombreux travaux ont été consacrés pendant ces 25 dernières années à l'étude des combinaisons «colloïdales» des ions dans le sérum, sans que les résultats obtenus par les différents auteurs soient toujours concordants. Toutefois l'unanimité semble être réalisée actuellement quant à l'état physique des principaux ions dans le sérum.

*Chlore.* — *Rona et Michaelis* avaient imaginé le procédé de dialyse compensée qui consiste à équilibrer l'ion à l'étude, diffusible à travers la membrane, avec une quantité connue du même ion diffusant en sens inverse. La comparaison de la proportion de l'ion en question, déterminée directement dans le sérum, avec la quantité diffusée, fournit la valeur de la partie diffusible de l'ion. Les auteurs établissent avec leur méthode que le chlore est entièrement diffusible.

*Rusznik* en ultrafiltrant à travers le filtre de *Bechhold* (collodion à 7%; pression d'oxygène de 10 à 12 atm.) aboutit au même résultat: le chlore est entièrement ultrafiltrable dans le sérum et dans le plasma contrairement à l'hypothèse de *Falta* et *M. Richter-Quittner.* Ces auteurs avaient trouvé du chlore «colloïdal» dans le plasma, fixé d'après eux à la fibrine, et du chlore libre dans le sérum.

En considérant l'humeur aqueuse comme un dialysat physiologique du sérum, *Creveld* arrive également à la conclusion que le chlore est libre dans le plasma et dans le sérum.

Enfin *Le Brull* par son ultrafiltration in vivo établit que le chlore du sérum est entièrement filtrable.

*Sodium.* — *Rona* et *Georgy* déterminent l'alcalinité du dialysat et de l'ultrafiltrat du sérum traité avec du $CO^2$, comparativement à celle du sérum initial et trouvent par titrimétrie une augmentation des bicarbonates dans le premier sérum ce qui correspond à 5/15 % de Na colloïdal.

Mais dans des publications ultérieures ils reviennent sur cette opinion et considèrent qu'au pH physiologique du sérum, le chlore, le sodium, et le potassium, sont entièrement libres dans le sérum alors que le calcium s'y trouve, au contraire, à l'état colloïdal.

*Neuhausen* et *Pincus* déterminent par le procédé de l'ultrafiltration une proportion de 7 à 12% de sodium colloïdal. *Rona, Haurowitz* et *Petow* dialysent du sérum de bœuf contre un dialysat contenant une concentration variable de Na. 10% de sodium sont d'après eux à l'état colloïdal.

*Hirth* et *Tchimber* ultrafiltrent le sérum avec un appareil analogue à celui de *Giemsa*. Voici leurs chiffres:

Sérum 3 gr 231 U. F. 3 gr 033.

Ils en concluent, vue l'erreur rélative de la méthode de dosage employée, que le sodium est presque entièrement filtrable. L'application des corrections de *Polany* aux chiffres de *Hirth* et *Tchimber* donnent également 10 à 12% de Na colloïdal.

*Calcium.* — *Rona* et *Takahasi* trouvent par leur procédé de dialyse compensée à peu près 40% de calcium colloïdal.

*Neuhausen* et *Pincus* estiment que dans le sérum de porc 40 à 60% du calcium sont à l'état colloïdal.

*Hirth* et *Tchimber* ultrafiltrent du sérum sur membrane de *Giemsa* et fixent à 40% le taux du calcium colloïdal.

*Updegraff, Greenberg* et *Clark* trouvent par ultrafiltration 34% de calcium colloïdal.

*Magnésium.* — *Hirth* et *Tchimber* étudient deux sérums et trouvent 30% de magnésium à l'état colloïdal.

Mg. Sérum 0 gr 023 U. F. 0 gr 017.

*Potassium.* — *Neuhausen* et *Pincus* considèrent le potassium comme entièrement ultrafiltrable.

Après des résultats contraires *Richter-Quittner* aboutit également à cette opinion.

*Rona* et *Petow* concluent dans un sens analogue, mais la question de l'état physique du potassium dans le sérum reste indécise.

Il semble donc acquis, à la suite de ces nombreux travaux, que le chlore existe entièrement à l'état cristalloïde dans le sérum. Les cations au contraire Na, Ca, Mg, sauf peut-être K, existent à l'état colloïdal et la proportion combinée aux protéïnes est plus ou moins importante.

Mais, dans toutes ces recherches c'est uniquement *l'état physique des minéraux* dans le sérum qui semble avoir préoccupé les chercheurs. A notre connaissance on n'a jamais suivi systématiquement les rapports existant entre l'état physique d'un

couple d'anions et de cations d'une part, et la nature des protéines avec laquelle les ions sont combinés d'autre part.

Nous avons étudié par le procédé de l'ultrafiltration l'état physique de l'anion Cl part rapport à celui du cation Na en fonction de la composition des protéïnes sériques. Nous avons observé dans quelles conditions l'un d'eux était combiné aux protéines au détriment de l'autre et cherché dans quelle mesure la fixation soit de Na soit de Cl, soit peut être encore de Na et de Cl à la fois, pouvait servir de test d'un changement éventuel dans la constitution des protéïnes sériques.

En ultrafiltrant une solution de protéïnates métalliques, la partie du cation combinée à la protéïne est retenue à l'intérieur de la membrane. Il suffira d'acidifier progressivement la solution pour qu'une proportion de plus en plus forte du cation devienne ultrafiltrable. On atteindra un point où le cation filtrera totalement à travers la membrane. Ce point correspond au p. i. des protéïnes considérées. En acidifiant d'avantage c'est l'anion qui sera retenu à son tour pour peu qu'il en existe dans la solution, alors que le cation restera complètement filtrable.

C'est ce que nous avons vérifié tout d'abord avec une solution à 8% de gélatine dans du normosal, et avec de l'ovalbumine en solution dans le liquide de *Tyrode*.

Nous dissolvons 25 gr de gélatine dans 400 cmc de normosal à 5‰. Nous en préparons 8 échantillons de 50 cmc chacun dont nous faisons varier le pH par addition de quantités croissantes d'acide lactique concentré et par alcalinisation ultérieure.

pH de la solution initiale = 6. Nous filtrons un échantillon laissé à ce pH. Les 350 cmc restants sont portés au pH 3 puis alcalinisés par addition de NaOH. Nous obtenus ainsi 5 échantillons à pH respectif de 3,3; 3,5; 4,4; 4,6; 4,9.

| | | p. H. | Cl | U. F. | Na | U. F. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sol. | A | 3 | 2,40 | 2 | | |
| , | B | 3,5 | 2,45 | 1,80 | | |
| „ | C | 4,4 | 2,49 | 1,45 | | |
| „ | D | 4,6 | 2,50 | 2,29 | 1,81 | 1,79 |
| „ | E | 4,9 | 2,50 | 2,50 | 1,80 | 1,65 |
| „ | F | 6 | 2,50 | 2,50 | 2,19 | 1,90 |

Conclusion: La gélatine existe sous forme de gélatinate de soude à partir du pH 4,9 vers les pH faibles, sous forme de chlorure de gélatine à partirde4,6 vers les pH forts. Le p. i. de la gélatine est donc situé entre 4,6 et 4,9. (On sait que le p. i. de la gélatine est à pH 4,7.) On voit donc que notre méthode d'ultrafiltration permet de déterminer le point iso-électrique avec une

exactitude suffisante. L'expérience a été faite entièrement à l'étuve, à la température de 37°.

On observe le même phénomène avec l'ovalbumine. Nous préparons une solution d'ovalbumine crist. à 4% dans une solution de *Tyrode*. Acidification par addition d'acide lactique. Alcalinisation ultérieure par addition de NaOH. Préparation de 6 échantillons à pH resp. de 3; 4,6; 4,7; 4,9; 5,1 et 7,5 (pH initial)

Solution initiale pH = 7,5.

| | | p. H. | Cl. | U. F. | Na | U. F. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sol. | A | 3 | 4,30 | 3,84 | | |
| „ | B | 4,6 | 4,30 | 3 12 | | |
| „ | C | 4 7 | 4,30 | 4,08 | | |
| „ | D | 4,9 | 4,32 | 4,30 | | |
| „ | E | 5,1 | 4,33 | 4,30 | 3 40 | 3 13 |
| „ | F | 7,5 | 4 32 | 4,27 | 3,47 | 3,17 |

*Conclusion:* L'ovalbumine existe sous forme d'ovalbuminate de soude à partir de 4,9 vers les pH faibles; de chlorure d'ovalbumine à partir de 4,7 vers les pH forts. Le p. i. de l'ovalbumine se trouve donc entre 4,7 et4, 9(p. i. de l'ovalbumine à pH 4,8).

On obtient une allure analogue du phénomène avec le sérum.

| Sérum normal | pH | Cl s | U. F. |
|---|---|---|---|
| | 7,4 | 3,23 | 3,23 |
| | 6 | 3,23 | 3,20 |
| | 4,5 | 3,23 | 1,97 |

Le fait que le phénomène est réversible, puisque le chlore retenu à pH 4,5 devient complètement filtrable quand on porte ce sérum par alcalinisation à pH 6 prouve que l'acidification n'a pas encore dénaturé les protéines. C'est à ce pH qu'il faut descendre pour observer dans un sérum normal la formation de chlorhydrate de protéïne.

| | pH | Cl | U. F. | |
|---|---|---|---|---|
| Sérum Initial . . . . . | 7,4 | 3,84 | 3.84 | I. R. 56 |
| Sérum acidifié (par addition de X gtt. d'acide lactique à 15 cmc de sérum) | 5,5 | 3,54 | 3.53 | I. R. 49 |

| Urémie | Urée | 0,80‰ | I. R. 58 | Rés. Alc. 35 |
|---|---|---|---|---|
| | pH | Cl s | Cl U.F. | |
| Sérum init. . . . . | 7,4 | 3,40 | 3,42 | |
| Sérum acidifié et dilué (10 cmc sérum + 5 cmc eau + X gtt. Ac. lact.) | 5,5 | 1,92 | 2 03 | |

| Sérum normal | pH. | Cl s | Cl U. F. | Na s | Na U. F. |
|---|---|---|---|---|---|
| | 7,4 | 3,23 | 3.23 | | |
| | 6,0 | 3.23 | 3,23 | | |
| | 4,3 | 3,23 | 1,97 | | |
| Sérum n. | 7,4 | 3,60 | 3,54 | | |
| | 5,5 | 3,56 | 3,56 | | |
| Sérum n. | 7,4 | 3,94 | 3,94 | | |
| | 6 | 3,90 | 3,90 | | |
| Sérum n. | 7.2 | 3.51 | 3 56 | | |
| | 5,9 | 3,50 | 3,50 | | |
| Sérum n. | 7,2 | 2,80 | 2,76 | | |
| add. de HCl. N/10 | 5,9 | 2,90 | 2,89 | | |
| Sérum path. | 7 5 | 2,67 | 2,67 | 3,41 | 2 57 |
| add. de HCl. N/10 | 5,9 | 3,10 | 3 15 | | |
| | 4 | 5 6 | 4,62 | 2,85 | 2,85 |
| Sérum path. | 7,4 | 2,76 | 2,76 | | |
| add. de HCl. N/10 | 6,7 | 3,90 | 3,90 | | |
| | 5,9 | 3,37 | 3,37 | | |
| | 5,7 | 3,29 | 3,29 | | |

On peut donc affirmer d'après l'exposé précédant que la présence dans le sérum, de chlorhydrate de protéïne, se traduisant par la rétention de chlore à l'intérieur de la membrane, indique une acidité actuelle du sérum du côté acide du p. i.; l'existence de protéïnate de soude, révélée par la rétention isolée de sodium, indique au contraire que le pH du sérum est du côté alcalin du p. i. Il s'en suit que la présence de chlore colloïdal dans un sérum est la preuve certaine d'une modification de la composition des protéïnes. En effet, la distance qui sépare le pH physiologique le plus bas du sérum, du p. i. des protéïnes normales est trop grande pour que la réaction du milieu extérieur, à elle seule, puisse commander la modification de la distribution des ions dans le sérum. De sorte que chaque fois que l'expérience démontre la présence de chlorhydrate de protéine avec un pH du sérum variant entre pH 7,8 et 6,8 *cela signifie que l'association des acides aminés, constituant la protéine, aura changé de caractère.*

Le même raisonnement s'applique quand le p. i. est décalé vers les pH faibles ou que le p. i. coïncide avec le pH du sérum.

1. Nous avons examiné, en premier lieu, une série de cas normaux et de cas patholiques où les protéïnes, sont inchangés.

Ces cas qu'il serait fastidieux d'exposer dans leur détail avec tous les chiffres obtenus se répartissent cliniquement de la manière suivante.

| | | |
|---|---|---|
| Sujets normaux | 10 | |
| Pneumonie | 4 | (sur 8 cas étudiés) |
| Colique hépatique | 1 | |
| Néphrite hydropigène convalescence sans oedème | 1 | |
| Urémie | 1 | |
| Urémie par manque de sel | 3 | |
| Hypertension isolée compensée | 4 | (sur 4 cas étudiés) |
| Oedèmes cardiaques | 10 | ( « 10 « « ) |
| Diabète léger | 7 | ( « 7 « « ) |
| Coma diabétique | 3 | ( « 3 « « ) |
| Ostéoarthrite dorso-lombaire | 4 | ( « 4 « « ) |
| Sciatiques | 6 | ( « 6 « « ) |
| Angine fébrile sans albuminurie | 7 | ( « 7 « « ) |
| Dysenterie amibienne | 1 | |
| Dyspepsies (Ptose, entéroptose, nerveux) | 7 | |
| Entérite muco-membraneuse | 1 | |
| Maladie de Raynaud | 1 | |

Nous indiquons, dans un tableau, la moyenne des valeurs qu'on trouve dans ces cas

| | | Chiffres extrêmes | Moyenne |
|---|---|---|---|
| 1) | Chlore du Sérum | 3.30 — 3.70 | 3.50 |
| | U F du Sérum | 3 30 — 3.50 | 3.50 |
| 2) | N a du Sérum | 3.30 — 3 50 | 3.40 |
| | U F du Sérum | 3 18 — 3 0 | 3.10 |
| 3) | C a du Sérum | 0.110 — 0 095 | 0.100 |
| | U F du Sérum | | 0.052 |
| 4) | p H du Sérum | | 7.48 |
| 5) | I R du Sérum | 57 — 53 | 55 |
| 6) | R A | 60 — 6 | 55 |

*Les protéïnes existent dans tous ces cas à l'état de protéïnate de soude.* Le chlore est entièrement filtrable; le p. i. se trouve régulièrement aux environs de pH 5; il est très stable. C'est à ces cas que s'appliquent les lois de *Van Slyke.* Nous observerons également, en acidifiant le sérum, que la quantité de sodium combinée aux protéines décroit progressivement pour tomber à O quand le p. i. est atteint. Nos mesures de pH ne sont pas assez rigoureuses pour que nous puissions indiquer les valeurs précises de la proportion de Na qui correspondrait à un pH déterminé.

*Liquide céphalo-rachidien.* Il était intéressant d'examiner également les modifications de la protéïne du liquide céphalo-rachidien. Il suffisait de déterminer par l'ultrafiltration l'ion, ca-

tion ou anion, combiné à la protéïne et l'ion antagoniste complètement filtrable.

On a essayé, en effet, d'élucider le mécanisme de la formation de cette humeur en comparant la proportion de ses ions par rapport à la partie diffusible des mêmes ions dans le sérum.

C'est ainsi que *Levinsohn* constatant que les constituants du sérum se trouvent présents en totalité dans le liquide céphalo-rachidien et que leurs propriétés physico-chimiques restaient identiques concluait que le liquide céphalo-rachidien était un produit immédiat du sang, ayant filtré à travers les membranes des choroïdes. (V. aussi Achard.)

C'est ainsi que le taux de la calcémie % varie normalement entr 9 mg 2 et 11 mg; 4 mg 75 à 5 mg 75 sont combinés aux protéines.4 mg à 5 mg, 5 sont diffusibles. Or, une quantité analogue, correspondant à la proportion diffusible du Ca sérique existe précisément dans le liquide céphalo-rachidien.

Ce raisonnement, il est vrai, ne concerne que les états normaux. En pathologie il intervient un facteur irréalisable par la membrane artificielle: c'est la perméabilité variable des cellules sous l'influence d'agents pathologiques.

Nous avons déterminé le taux du Na et du Cl dans le liquide céphalo-rachidien et dans son ultrafiltrat.

Cette expérience est difficile à effectuer sur un sujet normal parce que la quantité de liquide retirée par ponction est toujours trop faible. Il n'est pas toujours possible d'éviter l'erreur de membrane comme l'illustre l'exemple suivant.

Epileptique; liquide céphalo-rachidien: Liquide eau de roche, Alb.: normal. Deux cellules, pression (Claude) 30 cm en position assise.

| Liquide | chlores | ultrafiltrat | Remarque après une heure toute le liquide a passé. |
|---|---|---|---|
| 10 cc | 4 g 38 | 4 g 0.8 | |

Pour fixer nos idées, nous avons examiné tout d'abord, du liquide céphalo-rachidien de vache obtenu par ponction.

| | I | II |
|---|---|---|
| Liquide C. R. de vache | Cls 4 g 272 | 4 g 12 |
| 50 cmc | U. F. 4 g 269 | 4 g 11 |

Le chlore est par conséquent complètement ultrafiltrable.

Nous avons mélangé, ensuite, des liquides céphalo-rachidiens provenant de ponctions faites sur plusieurs sujets normaux. (Chlore du liquide, chiffres extrêmes de 4 g 65 à 3 g 97, moyenne 4 g 35, chiffres du sodium 3 g 50 à 3 g 35, moyenne 3 g 40.

| | | |
|---|---|---|
| Liquide C. R. humain | Cl 4 g 25 | Na 3.45 |
| 35 cmc | U. F. 4 g 23 | U. F. 3.32 |

On voit qu'il existe, dans le liquide céphalo-rachidien, une quantité de sodium telle qu'elle ne dépasse non seulement pas la partie diffusible du sodium sérique, mais encore le taux natrémique tout entier.

Les protéïnes du liquide céphalo-rachidien existent donc également sous forme de protéïnate métallique. Le pH se trouve aux environs de 7,8.

Nous n'avons pu fixer que, dans un seul cas, le p. i. des protéïnes du liquide céphalo-rachidien.

Tétanos. *Eau de roche. Alb.:* norm. *Cell.* 2. *Pression* 35. 50 cmc de Liquide retirés, pendant une journée.

| | pH | $Cl_{CR}$ | $Cl_{UF}$ |
|---|---|---|---|
| acidification par ac. lactique | 7, 8 | 4 g 32 | 4 g 32 |
| | 6, 5 | 4 g 32 | 4 g 32 |
| alcalinisation par NaOH | 6 | 4 g 35 | 4 g 01 |
| | 5 | 4 g 34 | 3 g 90 |

*Conclusion:* p. i. entre pH 6,5 et 6.

Il serait intéressant de poursuivre cette recherche parce qu'elle permettrait de vérifier si les protéines du liquide C. R. conservent les mêmes caractères que celles du sérum. Nous reviendrons plus loin sur les modifications des protéines de ce liquide dans certains cas pathologiques.

Dans tous les cas normaux ou pathologiques que nous avons cités jusqu'à présent, les protéïnes sériques conservent des caractères remarquablement constants. Elles existent toujours sous forme de protéïnate métallique. leurs combinaisons suivent les variations du pH selon, une fonction linéaire *(Van Slyke);* leur p. i. se trouve régulièrement aux environs de pH = 5.

2) Nous allons étudier maintenant un nombre de sérum pathologiques relativement élevé (50% des cas étudiés) où les protéïnes paraissent profondément modifiées. Nous examinerons tout d'abord le cas où les protéïnes existent sous forme de sels acides de protéïne dans le sérum. Le sodium est devenu entièrement ultrafiltrable de même que le calcium.

| $Cl_s$ | Cl U F | $Na_s$ | Na U F | $Ca_s$ | Ca |
|---|---|---|---|---|---|
| 3.23 | 2.94 | 3.30 | 3.29 | 0 g 089 | 0 g 087 |

Le sérum dont le pH varie entre des limites assez étroites, puisque ses valeurs extrêmes se trouvent respectivement à pH 7,8 et 6,8 est donc devenu acide par rapport à la neutralité propre des protéïnes. Il s'en suit que c'est le p. i., caractéristique d'une espèce de protéine déterminée, qui s'est déplacé de pH = 5 aux environs de pH 7,3 à 7,8. La protéine, au lieu de dissocier,

comme habituellement, l'ion H dissocie à présent OH. La composition des protéïnes est donc profondément changée.

Nous résumons nos résultats dans le tableau ci-contre qui contient 40 analyses (page 50). On y remarquera le parallélisme qui existe entre l'état physique du cation Na et celui de l'anion Cl conformément à la théorie de *Lœb*. Chaque fois que du sodium est retenu, le chlore devient entièrement ultrafiltrable; inversement le sodium devient entièrement diffusible dès que du chlore est retenu. Nous avons rencontré quelques cas, qui ne suivent pas cette règle; ils peuvent très bien s'expliquer d'après les conceptions de *Lœb* comme nous le verrons plus loin.

On peut observer une modification des protéïnes analogue dans les *épanchements*.

| | Cl s | U F | Na s | Na U F |
|---|---|---|---|---|
| Sérum . . . | 3.80 | 3,23 | 3.40 | 3.36 |
| Ascite . . . | 3 90 | 3.60 | | |
| Sérum . . . | 2.95 | 2.82 | 3.36 | 3.32 |
| Liquide pleural . . . | 1.86 | 0.70 | | |

En alcalinisant le liquide pleural (pH initial 7,5) par addition de quelques gouttes de NaOH N on obtient, avec un pH de 7,9 à 8:

| | p H | Cl s. | U F |
|---|---|---|---|
| add. de V gttes de Na O H | 7 5 | 2.95 | 1 g 99 |
| | 8 | 2.90 | 2 g 89 |

Ascite du même malade :

| p H | Cl s. | U F |
|---|---|---|
| 7,7 | 3 g 10 | 2 g 20 |
| 8,2 | 3 g 09 | 3 g 10 |

Dans le tableau ci-contre figurent tous les sels acides de protéines que nous avons rencontrés dans nos analyses; on a noté le pH; le Chlore du sérum (Cls); le Chlore de l'ultrafiltrat (ClUF); le Sodium du sérum (Nas); le Sodium de l'ultrafiltrat (NaUF); l'Indice de Réfraction (IR) et la Réserve alcaline en vol % (R. A.).

*Liquide céphalo-rachidien*. Nous n'avons pu examiner qu'un cas de tétanos et deux cas de méningite cérébro-spinale parce que ce n'est que dans ces conditions qu'une quantité suffisante de liquide peut être prélevée.

Nous avons déjà montré que dans le liquide normal le chlore est entièrement filtrable.

| Affection | pH | Cl s | Cl UF | Na s | Na UF | IR | RA | Remarques |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Néphrite aigüe hydropigène | 7.35 | 3 56 | 3 27 | 3 27 | 3.22 | 53 | 47 | |
| Néphrite hydropigène | 7.4 | 3 30 | 3.01 | 3 27 | 3.25 | 49 | 49 | |
| Néphrite hydropigène | 7 4 | 3.33 | 3.02 | 3.30 | 3.35 | 50 | 45 | |
| Néphrite hydropigène | 7.35 | 3.37 | 2.98 | 3.28 | 3 25 | 48 | 32 | |
| Néphrite hydropigène | 7.4 | 3 21 | 2.87 | 3.34 | 3 33 | 50 | 53 | |
| Azotémie aigüe | 7 3 | 3 75 | 3.55 | 3.25 | 3.23 | 60 | 26 | Urée 2g32 |
| Azotémie chronique | 7.3 | 3.81 | 3.60 | 3 30 | 3.28 | 59 | 32 | |
| Azotémie chronique | 7.28 | 3.92 | 3.70 | 3 21 | 3 23 | 64 | 38 | |
| Azotémie chronique | 7.35 | 3 71 | 3.47 | 3 30 | 3 35 | 58 | 42 | |
| Azotémie chronique | 7.2 | 3.95 | 3 50 | 3 28 | 3 26 | 61 | 30 | |
| Cirrhose hépatique éthyl. | 7.3 | 2.92 | 2.32 | 3.30 | 3.32 | | | |
| Cirrhose hépatique | 7 3 | 3.80 | 3 23 | 3 40 | 3 36 | | | |
| Cirrhose hépatique éthyl stade final | | 2 90 | 1.78 | 3 20 | 3.19 | 49 | 42 | |
| Cirrhose hépatique | 7.4 | 3 20 | 2 80 | | | 52 | 55 | |
| Cirrhose hépatique | 7 4 | 3 90 | 3 72 | 3 30 | 3.32 | | 50 | |
| Cirrhose hépatique | 7 4 | 3.42 | 3 20 | | | | 51 | |
| Cirrhose hépatique | | 3 57 | 3 32 | 3 20 | 3.21 | 51 | 52 | |
| Cirrhose hépatique | 7 3 | 3 10 | 2 87 | 3 19 | 3.21 | 48 | 49 | |
| Cirrhose hépatique | 7.35 | 3.27 | 3 01 | 3 15 | 3 10 | 49 | 55 | |
| Cirrhose hépatique | 7 2 | 3 42 | 3.10 | 3 27 | 3 21 | 53 | 32 | |
| Cancer thyroïd. | 7 5 | 3.14 | 2 97 | 3.42 | 3.37 | 50 | 65 | |

| Affection | pH | Cl s | Cl UF | Na s | Na UF | IR | RA | Remarques |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ca intestinal | 7.4 | 3.20 | 2.90 | | | 52 | | |
| Ca hépatique | 7.4 | 3 30 | 3.01 | | | 55 | | |
| Ca péritonéal | 7.4 | 3 50 | 3.10 | | | 55 | | |
| Ca pulmonaire | 7 3 | 3.70 | 3 40 | | | 50 | 39 | |
| Tuberculose pulmonaire aigüe | 7.4 | 3 55 | 3 37 | | | 50 | 45 | |
| Tuberculose pulmonaire aigüe | 7.5 | 3 90 | 3 67 | | | | | |
| Tuberculose pulmonaire aigüe | 7.3 | 3 70 | 3 42 | 3.10 | 3.08 | | | |
| Pneumonie Centrale | 7.3 | 3 81 | 3.55 | 3 24 | 3.28 | 57 | 47 | décès |
| Broncho-pneumonie | 7.2 | 3.27 | 2.99 | 3.41 | 3.40 | 59 | 38 | 10 jours avant le décès |
| Pneumonie Centrale | 7 3 | 3 81 | 3 55 | 3.24 | 3.28 | 56 | 47 | décès |
| Broncho-pneumonie avec pleurésie métapn. | 7.4 | 3 36 | 3.01 | 3.19 | 3.18 | | 59 | décès |
| Roséole | 7.4 | 3 37 | 3.19 | | | | 62 | |
| Syphilis III du foie | 7.5 | 3 65 | 3.05 | 3.41 | 3.10 | 52 | 66 | |
| Nephrite hypertensive | 7.4 | 3 59 | 3 01 | 3.25 | 3.21 | 49 | 45 8 | |
| Hypertension isolée | 7.4 | 3 55 | 3.35 | | | 52 | 50 | |
| Hypertension isolée | 7 4 | 3.65 | 3 39 | 3.33 | 3.02 | 53 | 55 | |
| Leucémie lymphoïde aigüe | | 3 29 | 2.38 | 3.36 | 3.31 | 54,4 | | |
| Leucémie myeloide | 7 3 | 3.46 | 3.16 | | | | 45 | |
| Bronchite aigüe asthme | | 3.53 | 3.15 | 3 20 | 3 23 | | 49 | |
| Albumosurie | 7.3 | 3 70 | 3.52 | 3.44 | 3.15 | | 62 | |

| | | |
|---|---|---|
| 1) Tetanos | 35 cmc<br>L. C R Cl 4.40<br>U F. 4.40 | Liquide clair.<br>p. i. 6,2. |
| 2) Méningite cérébro spinale<br>65 cmc de liquide<br>p H 7,7/7,6<br>(Sérum Cl 3g 65<br>U F. 3g 63 | L. C R Cl : 4.30<br>U F. : 4.09 | Liquide trouble<br>Cellules innombrables<br>p. i. 7,5 |

On note ce fait intéressant que dans le dernier cas les protéïnes du liquide C. R. paraissent entièrement différentes des protéïnes du sérum. En effet, celui-ci existe sous forme de protéïnate métallique, tandis que la protéïne du liquide est un sel acide.

Il en était de même dans le cas suivant:

| | | |
|---|---|---|
| 3) Méningite cer. spin. | | Liquide clair<br>inoculation au cobaie + |
| L C R. Cl 4. 40<br>U F. 4. 11 | | |
| Sang Cl 3. 43<br>U F. 3. 43 | | |

Alors que les protéines du sérum normal paraissent être d'une composition remarquablement constante, il n'en est plus ainsi des protéïnes modifiées. Ce fait est facile à comprendre. La variété des complexes est infinie; chacun possède un p. i. propre qui varie lui-même dès que change un seul des constituants du complexe. Les cas mentionnés dans le tableau ont des p. i. qui s'étalent sur toute la zône du pH physiologique, de 6,8 à 7,8. La différence de proportion de Cl retenu dans les différents cas, en est l'indice.

*3) Protéine au point isoélectrique.*

Nous avons eu l'occasion d'observer pendant 18 mois un cas de néphrite chronique avec azotémie.

Urée 1 g °/₀₀, R. A. déterminée à dix reprises 49.

| | | | |
|---|---|---|---|
| p H. 7,3<br>Cl$_s$ 3 g 76 | U F. 3 g 76 | N a $_s$ 3 g 34 | U F. 3 g 35 |

Le sérum est pélevé et filtré sous paraffine. Le Cl et le Na sont tous deux entièrement filtrables. Le p. i. des protéïnes coïncide donc avec le pH du sérum.

Pour vérifier ce fait nous avons d'abord acidifié le sérum; à 20 cmc nous ajoutons III gouttes d'acide lactique concentré.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| pH = 6.5 | Sérum | Cl | 3.80 | Na | 3.43 |
| | | U F. | 3 41 | U F | 3.41 |

Il a donc suffi d'ajouter 3 gouttes d'acide lactique pour obtenir un pH de 6,5 alors que normalement il faut une quantité d'acide de beaucoup supérieure pour amener un sérum à cette concentration en ions H. A ce point la reaction du milieu, qui était iso-électrique, avec les protéïnes est devenu acide par rapport au p. i. Le chlore est retenu; Na passe entièrement.

Nous avons fait ensuite une contre-épreuve. Au sérum à pH 6,5 nous ajoutons VI gouttes de NaOH N; pH = 7,5/7,7.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Cl s | 3.75 | Na s | 3 59 |
| U F | 3.75 | U F | 3.28 |

A cette concentration le sérum est donc devenu alcalin par rapport au p. i. C'est le sodium qui est retenu; le chlore devient ultrafiltrable.

Nous sommes donc bien en présence d'une protéine qui. dans le sang circulant se trouvait très probablement à son point iso-électrique au pH du sérum. Un léger changement du pH du sérum devait donc suffire pour modifier la réaction des protéïnes.

Nous avons donné à ce malade, pendant 10 jours, du chlorure de calcium à raison de 8 g par jour. La réserve alcaline est tombée à 32.

L'analyse du sang donne le résultat suivant:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| pH = 7,2 | Cl s | 3.89 | Na s | 3.40 | Ca s 0 g 097 |
| | U F. | 3.68 | U F. | 3.44 | U F. 0 g 095 |

Le procédé de l'ultrafiltration permet ainsi d'analyser de plus près ce cas de néphrite chronique avec azotémie.

Une analyse faite deux mois plus tard, donne les mêmes résultats que le premier examen: chlore et sodium complètement ultrafiltrables (autopsie: gros foyers d'infection staphyloccocique indurés, ligneux dans la paroi vésicale; néphrite chronique du type ascendant.)

Il s'agit donc, dans ce cas, d'une légère acidose due à la néphrite. Il suffit d'abaisser légèrement le pH du sérum par acidification intense de l'organisme pour que le chlore soit fixé à la protéïne. On ne saurait interprêter la rétention du chlore par la protéïne comme une réaction de défense contre l'acidose. Le changement de la protéïne a été le trouble primaire, puisque dans le sérum naturel les protéïnes sont déjà modifiées; elles ne retiennent ni cation ni anion. La rétention du chlore est dans ce cas uniquement la suite du changement de réaction du milieu extérieur.

Mais ce n'est pas le pH qui a provoqué la modification primitive de la protéïne sérique.

Nous avons observé un autre cas qui mérite un certain intérêt. Il s'agit d'un début de bronchopneumonie qui semblait légère. Température à 38°; état général excellent. 10 jours plus tard se révèle une tuberculose pulmonaire aigüe et le décès survient assez rapidement.

Au début de l'affection, l'analyse du sérum donne les résultats suivants:

Congestion fébrile T (bronchopneum.) { 38° (S) R. A. 55 IR 49 pH = 7.4 / 37° 8 (M)

Sérum Cl 3.25 Na 3.24
U F. 3.25 U F. 3.28

Nous sommes donc en présence d'une protéïne dont le p. i. correspond au pH du sérum naturel.

Nous ajoutons encore 4 cmc de HCl 1 N/10;

pH = 5.9 (6,3 - 5,7)

Cl s 3 62 Na s 2.325
U F 3.62 U F. 2.32

On voit que, à ce pH, le chlore et le Na restent entièrement diffusibles. — On peut expliquer ce fait d'après *Vlès* par la formation d'un nouveau complexe dont le p. i. coïncide avec le pH de 5,8. Toutefois une analyse faite à un pH intermédiaire de 6,7 (addition de 2 cmc HCl N/10) fournit encore le même résultat.

Nous citons encore quelques exemples de protéïnes iso-électriques avec le pH du sérum.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Blu... | Uremie ; Urée 4‰ | I. R. 50 R. A 36 | pH 7,2 |
| | Cl sér. 3.40 | Na sér. 3 g 28 | |
| | U F. 3.37 | U F. 3 g 28 | |
| We... | Néphrite hypertensive — Bacillose rénale | | |
| | Uremie ; Urée 2 g 60 % | I R. 49 R. A. 42 | |
| | Cl s 3.60 | Na s 2,70 | |
| | U F. 3.60 | U F. 2,80 | |
| Gre... | Congestion pulmonaire fébrile (Tbc. pulmon.) | | |
| | p H 7,4 ; I. R. 45 R. A 55 | | |
| | Cl s 3,20 | Na s 3,24 | |
| | U F. 3,20 | U F. 3,28 | |
| Jae... | Néphrite hydropigène ; œdèmes prononcées | | |
| | p H 7,3 I. R. 43 R. A. 48 | Urée 0,28‰ | |
| | Cl s 3,48 | Na s 3.18 | |
| | U F. 3,45 | U F. 3,18 | |

4) Enfin les protéines sériques peuvent être modifiées sans que ce changement apparaisse dans l'étude du sérum naturel. Le cas suivant en est un exemple.

Gre (65).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Congestion pulmon. fébr. | I R 45 | R. A. 55 | p H = 7.4 |
| Sérum | Cl 3.20 | U F 3.20 | Nas 3.49 — UF. 3.20 |

On ajoute 2 cmc HCl N/10 à 20 cmc de sérum.

p H — 6

| | | | |
|---|---|---|---|
| Cls 3 49 | U F 3 30 | Na s 3 42 | U F 3 42 |

Le p. i. se trouve donc aux environs de pH 6.

(67) Zur. Néphrite hypertensive: bacillose rénale bilat.

Urines: Inoc. au cob +. T. A. 220/140 RR. Urée 0.81‰. IR. 56. RA. 51, pH 7,4.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum Cl | 3 40 | Na | 3.39 |
| U F | 3.40 | U F | 2.92 |

Acidification par addition de 3 cmc HCl N/10. à 15 cmc de sérum pH 6,3 (6/6.6).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum Cl | 3 60 | Na | 2.73 |
| U F | 3 65 | U F | 2.70 |

*P. I. à 6,3.*

(69) Birs Hypertension 240/170 RR. Vertiges — dyspnée d'effort cœur hypertensif, mais parfaite compensation depuis 18 mois. Régime déchloruré.

RA 64 IR 53 pH 7,45

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum Cl | 3 02 | Na | 3.30 |
| U F | 3 02 | U F | 3 15 |

Acidification par addition de 3 cmc HCl N/10.

pH — 6,7

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum Cl | 3.20 | Na | 2.54 |
| U F. | 3.19 | U F | 2.44 |

*P. I. près de 6,7.*

La quantité de Na fixée aux protéïnes semble être d'autant plus faible que le p. i. est plus prêt du pH du sérum. Mais nos déterminations du pH sont trop peu précises pour qu'on puisse en tirer une indication précise concernant le changement des protéïnes.

Il résulte de toutes ces analyses que, la situation du p. i. de ces protéïnes modifiées est très variable; il s'échelonne sur toute l'étendu de la zône des pH du sérum jusqu'au p. i. des protéïnes sériques normaux. Ce point n'est stable que dans des limites très étroites des variations du pH.

Nous devons faire remarquer ici que notre méthode est difficilement appliquable à la détermination des p. i. déplacés vers les pH forts. Une acidification trop forte risquerait, dans ces régions, de dénaturer les protéïnes. C'est pourquoi nous avons examiné après chaque acidification si les réactions des protéïnes avec les ions restaient réversibles. Ce sont seulement ces cas que nous avons cités.

5) Nous avons enfin observé quelques cas où le Cl. aussi bien que le Na étaient fixés aux protéïnes, au pH du sérum naturel.

(92) Leucémie subaigue myéloïde; hémorragie continue depuis 4 semaines.

| | | |
|---|---|---|
| IR 54,5 | R A. 5 2 | pH 7,45 7,5 |
| Sérum | Cl 3 29 | Na 3 30 |
| | U F 2.60 | U F 3.10 |

Cirrhose du foie. — Néphrite hydropigène et hypertension — Hydrothorax.

(47) De... RA. 33. IR. 44 pH 7,9 (sous paraff.).

| | | |
|---|---|---|
| Sérum Cl | 2 53 | Na 3 33 |
| U F | 1 60 | 3.05 |

(4) Lo... Néphrite sèche; hypertension.

RA. 45.8 IR. 62 Urée 0.40 ‰ pH 7.3.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum | Cl 3.59 | Na | 3 25 |
| U F | 3 01 | U F | 3 01 |

(26) Jae... Splénomégalie Hepatomégalie.

Ictère grave greffée sur cirrhose hépatique

IR 51 RA 51 Temps de sédimentation très accéléré.

| | | |
|---|---|---|
| Sérum Cl | 3 90 | Na 3 43 |
| U F | 3.72 | U F 3 18 |

Cette combinaison simultanée d'anions et de cations aux protéïnes n'infirment en rien la théorie de *J. Lœb*. On peut admettre que dans ces cas les complexes qui constituent les protéines sériques, ont des p. i. tels que le pH du sérum se trouve du côté acide du p. i. d'un complexe et du côté alcalin du p. i. d'un autre complexe.

Nous avons vu d'ailleurs que des anions d'albumine sont capables de fixer malgré la prédominence de leurs charges négatives des anions d'acide avec leurs groupements chargés positivement; de même des cations d'albumine peuvent fixer sur leurs groupes, négativement chargés, des cations métalliques. Des combinaisons pareilles ont pu être démontrées par plusieurs auteurs *(Wo. Pauli)*. Comme le nombre des charges positives du côté alca-

lin du p. i. et le nombre de charges négatives du côté acide descend vers O, les effets ioniques «paradoxaux» doivent diminuer avec la distance croissante du p. i. On ne les observe donc qu'au voisinage de ce point. Autrement dit: quand on observe la fixation simultanée d'anions et de cations, la réaction du milieu extérieur doit être voisine du p. i. des protéïnes. Nous avons essayé d'analyser un sérum qui réalisait ces conditions.

(97) Di... Myocardite (Bierherz). — Cirrhose hépatique, Ascite. foie hypertrophié

| pH 7.2 | IR. 60 | RA. 40 |
|---|---|---|
| Serum Cl 3 50 | | Na 3.37 |
| UF 3.08 | | U F 3 21 |

Nous avons pratiqué, à jeûn, une saignée et nous avons recueilli 150 cmc de sérum (s. paraffine).

Selon la méthode de *Howe* nous avons isolé par précipitation avec du sulfate d'ammonium à ½ saturé la sérum globuline, et la sérine par saturation du filtrat avec des cristaux de sulfate d'ammonium.

Nous avons essayé d'enlever le sulfate d'ammonium par dialyse sans toutefois y réussir complètement.

Nous avons dissout ensuite les deux protéines, chacune dans 80 cmc d'eau physiologique puis complèté chaque solution par addition de 70 cmc d'eau distillée au volume initial.

Nous avons préparé de chaque solution 6 échantillons de 30 cmc que nous avons portés à différents pH par addition de HCl N ou de NaOH N; puis ultrafiltré chaque échantillon et déterminé selon l'habitude Cl et Na dans la solution et l'ultrafiltrat correspondant.

En voici le résultat:

| | Globuline | p H | Cl | -U F | Na | -U F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sol A | V gouttes HCl N | 5 | 1.21 | 0.89 | | |
| B | pH initial | 6 5 | 1 g | 0 40 | 0 83 | 0 90 |
| C | 4 gttes NaOH N | 6,9 | 1.25 | 1 05 | | |
| D | 6 gttes NaOH N | 7,2 | 1 19 | 1.12 | | |
| E | 8 gttes NaOH N | 7,38 | 1 02 | 1 | 1.20 | 1 03 |
| F | 11 gttes NaOH N | 7,9 | 1 | 1 | 2.76 | 2.46 |

*Le point iso-électrique se trouve par conséquent entre 7,2 et 7,38.*

| | Albumines | p H | Cl | -U F | Na | -U F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sol. A | 8 gttes HCl N | 4,9 | 1 51 | 1 30 | | |
| B | pH initial | 6 5 | 1 33 | 0 97 | | |
| C | 1 gttes NaOH N | 6,6 | 1.28 | 1.08 | 1 | 1 03 |
| D | 2 gttes NaOH N | 6,8 | 1.15 | 1 57 | 1 12 | 0.97 |
| E | 5 gttes NaOH N | 7,2 | 0 989 | 1 02 | | |
| F | 10 gttes NaOH N | 8 | 1 04 | 1 g | 2 17 | 2.07 |

*Le p. i. est donc situé entre pH 6,6 et 6,8.*

Pour comparer ces résultats à ceux d'un sérum normal nous avons analysé de la même manière le sang d'un sujet normal.

(36) He pH 7,4 IR 53 R. A. 55.

| Sérum | Cl | 3.45 | Na | 3.39 |
|---|---|---|---|---|
| | U F | 3 46 | U F | 3.10 |

Prélèvement du sang par saignée; 150 cmc de sérum; précipitation par sulfate d'ammonium à ½ saturé; précipitation du filtrat par saturation avec des cristaux de sulfate d'ammonium.

Préparation de 4 échantillons de solutions de globuline et de 4 échantillons de solution d'albumine à différents pH.

Préparation de 8 échantillons de globuline et d'albumine.

| Globuline | | p H | Cl | -U F | Na | -U F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sol. | H | 3 | 4 04 | 2.52 | | |
| | I | 5 | 3 97 | 3.40 | | |
| | K | 6 | 4.04 | 4 04 | 3.31 | 3,31 |
| | L | 9 | 3 95 | 3 97 | 3 76 | 3 08 |
| Albumine | | | | | | |
| Sol. | M | 4,4 | 4 17 | 3.55 | | |
| | N | 5,2 | 4.08 | 4 08 | | |
| | O | 5,8 | 4.08 | 4 18 | 3 30 | 3.08 |
| | P | 7,5 | 4.19 | 4.18 | | |

Malgré l'imprécision de détermination du pH le p. i. de la globuline et de la sérine coïncide avec les chiffres classiques.

Nous mettons en régard les valeurs des p. i. déterminés avec le potentiomètre et celles trouvées par ultrafiltration et colorimétrie combinées.

| | | | U F |
|---|---|---|---|
| Sérumalbuline | p. i. | 4,7 | entre 4.4/5,2 |
| Sérumglobuline | p. i. | 4,55 | |
| | | 5,4 | » 5 0/6,0 |

Quoiqu'il en soit le décalage du p. i. de l'albumine et de la globuline est considérable dans le cas pathologique étudié.

Si ces résultats se confirment il s'en suit que dans le sang circulant les constituants du complexe protéïque sont formés eux-mêmes par des complexes dont la composition varie sous l'influence de facteurs inconnus à l'heure actuelle.

D'après ce qui précède nous pourrions peut être expliquer la fixation simultanée de Cl et de Na existants dans cette cirrhose par le décalage des p. i. de la sérumalbumine et de la globuline. Le pH du sérum est en effet du côté acide du p. i. de la globuline, du côté alcalin du p. i. de la sérum albumine.

Il est nécessaire, avant tout, d'établir l'exactitude de cette observation par la répétition de ces analyses très délicates. Nous

avons cru intéressant de mentionner dès à présent, cette expérience à titre d'indication.

Il est intéressant de rapprocher de ces observations les recherches entreprises sur la constitution chimiquue des protéïnes du sérum. C'est ainsi que *A. Fischer,* en analysant le sérum de bœuf a pu identifier 7 corps protéïques chimiquement différenciés dont la composition, en proportions définies constituent les globulines et les sérines. Les fractions obtenus par la combinaison des différentes précipitations avec des sels neutres sont un mélange d'une partie des 7 corps qu'il n'a pas été possible de décomposer davantage. *Fischer* aboutit à cette conclusion que malgré la complexité de ces recherches et la difficulté d'interprêter les résultats il apparait dès à présent qu'il est contraire à la réalité des faits de considérer la globuline et la sérine comme des entités chimiques stables. La globuline serait un mélange de 4, la sérumalbumine de 3 corps protéiques chimiquement (et sans doute aussi physiquement) nettement différenciés. Sous l'influence d'agents pathologiques dont le mécanisme n'est pas encore élucidé, les différents constituants de la globuline sont augmentés en des proportions *inégales.* Des conditions pathologiques différentes peuvent produire l'augmentation isolée d'une seule de ces protéïnes. Il en est de même pour le «groupe» des sérum albumines. Il y aurait lieu d'entreprendre des mesures quantitatives de chacun de ces 7 corps protéïques. De grandes difficultés techniques s'y opposent encore actuellement, mais on peut déjà déduire de l'analyse de la totalité de protéïnes l'augmentation de l'un ou l'autre des acides aminés constituants. L'augmentation du tryptophane p. ex. permet de conclure à une augmentation de l'euglobuline précipitable par le chlorure de sodium. Dans certains cas on a aussi trouvé une diminution de la cystine.

*Evolution.*

La modification des protéines semble durable; nous avons observé le changement des combinaisons avec les ions sous l'influence de la variation du pH extérieur, en cas d'acidose par exemple. Mais le p. i. d'une protéine sérique déterminée reste constant aussi longtemps que durent les phénomènes pathologiques.

Cirrhose ethylique

| | Date | Cl | | UF | R. A. |
|---|---|---|---|---|---|
| (92) | | 3.50 | | 3.37 | 47 |
| | 8/1 | 3.58 | | 3.21 | |
| | 2/2 | 3.50 | | 3.37 | |
| | | 3.58 | | 3.39 | 41 |
| | 3/2 | | Décès | | |

| Date | Cirrhose éthylique | Cl | Na |
|---|---|---|---|
| 8/8 | S | 3 20 | 3 33 |
| | UF | 2 80 | 3 05 |
| 9/8 | S | 3 10 | |
| | UF | 2.75 | |
| 16/8 | S | 3 18 | |
| | UF | 2.80 | |
| 10/10 | S | 3,40 | 3.36 |
| | UF | 2.90 | 3 11 |
| 14/11 | S | 3 20 | |
| | UF | 2.75 | |

15/11 Décès.

(2) Lo.. Néphrite hypertensive.

Sang total

| Date | $H^2$ O | Subst. sêche | Cl | Na | Ca | Héma tocrite |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3/XII | 820 5<br>820 5 | 222,9<br>223,2 | 3.04<br>3 03 | 2.037<br>2.06 | 0.1192 | 45 |
| 15/XII | 824,5<br>821,1 | 225.5<br>225 3 | 2,78<br>2 79 | 2 10<br>2 22 | 0 097<br>0,099 | 44 |
| 23/XII | 821,<br>820,8 | 224 0<br>224.2 | 2 86<br>2 86 | 2.10<br>2 10 | | 40 |

Serum

| IR | RA | $H^2$ O | Subst. sèche | Cl | Na | Ca | Cl L. CR | Cl UF | Na UF | Urée | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 64 | 45,4 | 919 8<br>922,5 | 108 0<br>107 3 | 3 98 | 3 26<br>3 30 | 6 154<br>0 143 | 4,40 | 4 | 3.31 | 0 28 | 7 3 |
| 6 25 | 43,2 | 923 2<br>927 2 | 108 0<br>107 8 | 3.67 | 3 31 | 0 143<br>0.142 | | 3.63 | 3.19 | | 7,45 |
| 62 | 45 8 | 918.6<br>913,9 | 11 6<br>112,9 | 3 50 | 3 25 | | | 3.05 | 3.29 | | 7 3 |

A la première analyse les protéïnes existent sous forme de protéine i. e., à la deuxième analyse les protéines existent sous forme de protéinate métallique, à la troisième analyse les protéines existent sous forme de sel acide de protéine.

Or le pH le plus faible coïncide avec l'existence dans le sérum de protéïnate métallique; à ce moment la R. A. est la plus basse, le Cl du sérum diminue, le taux du sodium reste invariable.

*Equilibre acide bases.*

En partant de la modification de l'état physique du chlore par addition d'acide au sang, observée in vitro *(Hamburger, Rona* et collaborateurs) on a émis l'hypothèse qu'au cours de toute acidose, diabétique, néphritique ou autre, le chlore perdrait en partie la propriété d'être entièrement ultrafiltrable *(Blum, Delaville* et *Thiers, Ambard* et *Schmid)* sans qu'on ait constaté un parallèlisme entre le degré de l'acidose et la proportion de chlore retenu. On a émis l'idée très séduisante d'une réaction de défense grâce à laquelle l'organisme pare à l'accumulation d'acide dans le plasma par la fixation des anions sur la protéine; le sodium deviendrait ultrafiltrable en cas d'acidose forte; au contraire, quand l'acidose se produit rapidement il y aurait une phase où le sodium perdrait complètement son ultrafiltrabilité.

L'acidose des Brightiques, suite principale d'hyperchlorémie, serait provoquée ainsi par une modification des protéines. Dans certaines conditions leur propriété semblerait changée au point que la fonction de tampon n'est pas remplie.

Le calcium deviendrait également de plus en plus ultrafiltrable à mesure que la réserve alcaline baisse; la durée de l'acidose en serait le facteur déterminant bien plus que l'intensité de l'acidose.

L'équilibre acide base a aussi été invoqué pour expliquer les phénomènes d'ossification *(Blum, Delaville* et *Van Caulaert)*. La fixation de Ca sur les protéïnes qui constituent le tissu ostéoïde n'est possible que si la réaction tissulaire est du côté alcalin du p. i. de la protéïne. Dans les états d'acidose où le sang n'est plus en mesure de neutraliser les acides provenant du métabolisme tissulaire, les protéïnes sont inaptes à fixer le Ca.

Le sang a été également étudié par le procédé de l'ultrafiltration dans les maladies du choc, l'asthme anaphylactique, la maladie du sérum. La proportion du Ca ultrafiltrable augmente considérablement au point qu'elle atteint parfois 90% et même la totalité du Ca (*Blum* et collaborateurs). Il semble y avoir, d'après les auteurs un rapport entre la quantité de Ca ultrafiltrable et l'intensité des accidents. Un changement de la réaction du milieu dans le sens de l'acidité aurait pour effet de détruire le complexe colloïdal en faisant perdre, à la protéïne, son rôle d'acide faible.

La production d'un choc peptonique chez le chien provoque également une augmentation du Ca ultrafiltrable. L'abaissement de la réserve alcaline précède les modifications de l'état physique du calcium.

Enfin le choc séro-anaphylactique provoqué chez le lapin au moyen du sérum de cheval augmente également la proportion du Ca ultrafiltrable, et abaisse la réserve alcaline.

Dans l'ensemble, il ressort de ces nombreuses et intéressantes recherches qu'il existe, un rapport de cause à effet entre l'acidose et le changement de l'état physique des ions.

Il nous semble que d'après nos recherches il y a lieu de distinguer deux faits:

Nous avons cité, à plusieurs reprises, quelques cas où le p. i. correspond à la réaction actuelle du sang. *Il suffit alors d'un léger déplacement de la réaction du milieu vers l'acidité pour que les protéïnes fixent les anions.* Le calcium retenu normalement est alors complètement ultrafiltrable tout comme le sodium.

L'analyse d'un cas d'asthme anaphylactique corrobore cette affirmation.

Neu..., 29 ans. Crises d'asthme essentiel après ingestion d'œuf, appendicite chronique nette (les crises ont disparu complètement après appendicectomie faite il y a 9 mois).

| Intervalle sans crise | Cls | U F | Nas | U F |
|---|---|---|---|---|
| | 3.40 | 3.21 | 3.21 | 3.17 |
| | IR | RA | pH | |
| | 50 | 49 | 7.35 | |

Voilà donc un cas d'asthme essentiel où existe une modification des protéïnes sans acidose prononcée et dans l'intervalle de la crise. Nous n'avons malheureusement pas eu l'occasion de prélever du sang au moment d'une crise. *Mais, la modification des protéïnes est certainement primaire et n'est pas due au déséquilibre acide bases.* Il est intéressant de signaler qu'une analyse du sang faites chez ce malade 3 mois après l'intervention montre une réaction normale des protéïnes avec une réserve alcaline de 49.

La détermination systématique de la réserve alcaline dans tous nos cas démontre qu'avec une réserve alcaline de 65, de 50, de 55, de 49 tout aussi bien que de 15 ou de 10 on peut observer une modification profonde des protéïnes.

Inversement des réserves alcalines très basses de 6, de 10 se rencontrent fréquemment avec une protéïne de constitution absolument normale. Dans d'autres cas enfin le sang semble contenir des protéïnes normales qui existent sous forme de protéïnate métallique, la réserve alcaline est abaissée. Ce n'est qu'un examen systématique du sérum à pH variés qui montre un décalage du p. i.

*La modification des protéïnes apparaît donc comme un phénomène pathologique essentiel indépendant du déséquilibre acide bases.*

---

Math. Urémie ; hypertension.
26/XI Urée 6% — IR 60 RA 10 Acétone 0.14%

| | Cl | Na | $H^2O$ | Subst. sèche | Cl Liquide C.R. | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sérum | 3.63 | 3.55 | 917.9 | 108,1 | 4.93 | *p. i.* = 5,3 |
| U F | 3.68 | 3.25 | | | | |

Zo XI Urée 9‰ - L. CR Cl 4,95 I. R. 60 RA 14 Acétone 0g17 %

| | Cl | Na | H² O | Subst sèche | |
|---|---|---|---|---|---|
| Sérum | 3 67 | 3.49 | 917 | 110,5 | *p. i.* 5,2 |
| U F | 3 63 | 3 30 | | | |

We Coma diabétique Glycémie 3 97 ‰ Urée 2‰
RA 6 IR 68 Sérum Cl 2,84
U F Cl 2 85 *p. i.* = 5

Ar. Coma diabétique Glycémie 5g ‰ Urée 2g 60 ‰
RA 6 IR 65

| | Cl | Na | Ca | |
|---|---|---|---|---|
| Sérum | 3 00 | 3.19 | go 98 | *p. i.* 5,2 |
| U F | 3 01 | 2 98 | go 57 | |

*L'hydrémie* ne semble pas davantage influencer la composition des protéines.

Nous avons observé un assez grand nombre d'oedèmes cardiaques sans jamais trouver une modification des protéines. Nous choisissons deux exemples parmi nos cas.

Ba. Oedème cardiaque oedème des extrémités et du scrotum important.

Etat de décompensation cardiaque. Og 50 d'Alb. Esmbach

| | | Cl | Na | |
|---|---|---|---|---|
| IR 45,9 | Sérum | 3 10 | 3.29 | *p. i.* 5,2 |
| | U F | 3.12 | 2,98 | |

Myocardite, foie cardiaque. Ascite volumineuse. Oedème

IR 45 R. A. 42

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sérum Cl 3 40 | Na 3 30 | *p. i.* 5 |
| U F 3 40 | U F 2,99 | |

Vaillard, 75 ans. Artério sclérose généralisée T. A. 16/10. IR. 65

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Sérum | Cl | 3 36 | Na | 3 31 | *p. i.* 5 |
| | U F | 3 31 | UF | 3 01 | |

On administre 20 g de bicarbonate de soude par jour pendant 4 jours. Augmentation de 2 kg ½.

I. R. 49 L'état des protéines n'est pas modifié.

| | Cl | Na | |
|---|---|---|---|
| Sérum | 3 28 | 3 33 | *p. i.* 5,2 |
| U. F. | 3.27 | 3.01 | |

Nous avons divisé d'autre part du sérum, additionné d'une trace de crésol pour éviter la contamination, que nous avons laissé pendant 24 heures à la glacière.

A 5 cmc de sérum nous avons ajouté 15 cmc d'eau distillée.

Sérum initial Urée 0,60 0/00 I R 58 Cl

Sérum 3 40

U F 3.40 *p. i.* 5,2

10 cmc Eau + 10 cmc Sérum + Normosal 0g09

Sérum 1 54

U F 1 55 *p i.* 5

La dilution du sérum ne paraît donc pas modifier les protéïnes.

Nous avons observé également l'effet d'une forte diurèse sur une protéïne modifiée.

1. Urée 0 g 60 0/0 — IR 50 R. A. 51

| | Cl | Na |
|---|---|---|
| Sérum | 2 g 95 | 3 g 0 |
| U F | 1 g 65 | 3 g 0 2 |

On injecte à la malade du neptal. Diurèse de 7 l (diminution du poids de 7 kg en 10 heures). Prise de sang à la douzième heure après l'injection.

Urée 0 g 67 0/00 IR 50 R. A. 51

| | Cl | Na |
|---|---|---|
| Sérum | 2 06 | 3.36 |
| U F | 1.78 | 3.18 |

2) Lu... Anurie reflexe Diurèse subite de 5 l.

Sang total

| Date | $H^2O$ | Subst. sèche | Cl | Na | Ca | Hématocr |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 29/XI | 831 | 216 | 2,84 | 1 83 | 0,109 | 49 |
| 1/XII | 841 | 210 | 2,98 | 2,09 | 0,070 | 46,5 |

Serum

| IR | RA | $H^2O$ | Subst. sèche | Cl | Cl UF | Na | Na UF | Ca | Urée | Remarque |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 52,5 | 38 8 | 930 | 88,1 | 3.40 | 3 41 | 3.27 | 2 97 | 0 122 | 1,75 | Liquide CR Cl 4,47 Diurèse subite de 51, le 30/XI |
| 50 p.H. 7,2; p i. 6 | 34.6 9/7,2 | 938 | 85 | 3,80 | 3 40 | 3.33 | 3 12 | 0,104 | 1,92 | Liquide CR Cl 4,09 |

*Répartition clinique des cas étudiés.*

Le nombre des cas que nous avons étudiés est trop restreint pour que nous puissions en tirer aucune conclusion quant à l'application des résultats à la clinique.

Nous croyons toutefois utile de grouper les cas d'après les affections pour examiner la régularité du phénomène observé dans une catégorie de maladies déterminées.

*Cirrhose hépatique* Dans les 15 cas étudiés nous constatons régulièrement une modification profonde des protéines. Celles-ci existent dans 10 cas sous forme de sel acide de protéïne. Dans les autres cas la protéïne est au p. i. avec le pH du sérum ou bien aussi sel acide de protéïne et protéïnate métallique coexistent simultanément. La recherche systématique du quotient albumine globuline dans les cirrhoses avec ascite montre également une inversion constante de ce rapport c'est-à-dire une modification des albumines et des globulines du sérum. Nous avons pu montrer, dans un cas de cirrhose éthylique une modification profonde portant à la fois sur la composition des globulines et des albumines. Nous avons rapproché cette constatation des études de *A. Fischer* qui tendent à démontrer que dans certains cas pathologiques les constituants de la globuline ou de l'albumine sont inégalement augmentés. Il résulte de ces recherches que ni la globuline, ni la sérumalbumine ne constituent un corps chimique défini. Nous citons le quotient albumine globuline dans 2 cas de cirrhose que notre ami *H. Metzger* a bien voulu déterminer pour nous.

| 1. Cas normal | 2. Cirrhose D. | 3 Cirrhose hépatique |
|---|---|---|
| N glob 5,39 | N glob 8,19 | N glob. 7,97 |
| N alb 6 19 | N alb 4,61 | N alb. 3 95 |
| Q = 1,1 | Q = 0 56 | Q = 0,49 |

Dans ces cas la vitesse de sédimentation a été notablement augmentée. Nous rappelons l'hypothèse d'*Abrami* d'après lequel les modifications des protéïnes dans les cirrhoses avec ascite jouent un grand rôle dans la production des oedèmes tout comme dans les néphroses. Toutefois sur 15 cas de cirrhose étudiés (dans 10 cas confirmation du diagnostic à l'autopsie) la modification des albumines a été constatée 9 fois sans la présence d'ascite; l'indice de réfraction était toujours très bas.

*Affections pulmonaires.* Dans les trois cas de tuberculose pulmonaire que nous avons étudiés les protéïnes étaient modifiées, il s'agissait d'une pneumonie caséeuse au stade final, d'une tuberculose ulcérocaséeuse avec un état de cachexie des plus marquées et enfin d'une polysérosite avec grosse caverne et forte amylose et oedème aux membres inférieurs.

Nous avons examiné 8 cas de pneumonie ou de bronchopneumonie. Sans vouloir tirer aucune conclusion des faits observés il est intéressant de signaler que dans le 4 cas où la protéïne était profondément modifiée le décès est survenu à bref délai. Dans les 4 cas, au contraire, où les protéïnes sériques étaient restées normales la guérison a suivi régulièrement.

Nous avons observé enfin un cas d'asthme intriqué avec forte éosinophilie dans les crachats; crises subintrantes. Les protéïnes étaient profondément modifiées, de même que, dans un autre cas d'asthme anaphylactique d'origine digestive.

*Cancer.* Nous n'avons examiné que 4 cas de cancer, un cas de cancer du corps thyroïde très volumineux avec mauvais état général 4 mois avant le décès. Un cas de cancer médiastinal avec des signes prononcés de compression 15 jours avant le décès, un cas de cancer secondaire du poumon et enfin un cas de cancer du rectum au début, facilement énucléable (décès par bronchopneumonie intercurrente).

*Syphilis.* Nous avons étudié un cas de roséole secondaire chez une femme, un cas de syphilis tertiaire du foie (diagnostic anatomique) chez un homme. Nous avons déjà cité les études de *Vlès* qui trouve un déplacement du p. i. dans la syphilis des hommes dans une proportion de 100%.

*Néphrite.* Les néphrites hydropigènes sont d'observation assez rare dans les services hospitaliers, sans doute parce que le traitement par le régime déchloruré se fait à domicile dès l'apparition du premier signe de néphrite. Nous n'avons pu observer, pendant 3 ans que 5 cas de néphrite hydropigène et un seul cas de néphrite sèche.

Dans les néphrites hydropigènes nous trouvons régulièrement une modification des protéines. Cette constatation est à rapprocher des modifications constantes des protéïnes dans la cirrhose hépatique comme nous l'avons dit plus haut. En effet les troubles de la composition des protéïnes ne peuvent pas être secondaires à l'hydrémie puisque, dans aucun cas d'oedème mécanique de quelque origine, qu'elle soit, les protéines ne sont modifiées.

Dans un cas de néphrité aigüe avec oedème le p. i. des protéïnes est revenu à la normale après disparition de la température, de l'albumine, et de l'oedème. Dans la néphrite hypertensive, de même que dans l'hypertension isolée les protéïnes sont en général normales. Dans 10 cas sur 13 étudiés le p. i. se trouvait aux environs de 5.

Par contre au stade final des néphrites (urémie) la protéïne est presque toujours modifiée sans que l'abaissement de la ré-

serve alcaline n'influence en rien cette modification. Nous trouvons les protéines à l'état normal dans un cas d'urémie examiné pendant 15 jours consécutifs avec une RA qui tombe de 25 vol. % à 9 vol. %; p. i. constamment aux environs de 5. Dans les autres cas où la protéine était modifiée, la valeur moyene de la RA est entre 45 et 30.

Il semble bien qu'en ce qui concerne la constitution des protéïnes, la néphrite hypertensive soit en opposition avec la néphrite hydrophigène. Sur 9 cas étudiés nous n'avons trouvé qu'une seule fois une modification des protéines (v. tableau p. 50). Or, dans ce cas l'indice de réfraction est de 49; il s'agit vraisemblablement d'une forme mixte avec pré-oedème.

Dans l'hypertension isolée la constitution des protéïnes est normale (dans 4 cas sur 6 étudiés).

Dans l'albuminerie simple et quelle que soit l'importance de l'albuminerie, les protéïnes ne sont jamais modifiées. Il en est de même dans deux cas d'amylose.

*Coma diabétique.* Nous avons examiné 3 cas de *Coma diabétique.* Nous donnons le détail des analyses parce que les résultats peuvent avoir un certaine intérêt pour la connaissance de la pathogénie de l'acidose.

1) Rieh Coma diabétique Respiration de Kussmaul
Glucosurie 7% Glycémie 3,70‰ Urée 0g 24 IR 59 R. A. 41 pH 7,42

| | Cl | Na | Ca | |
|---|---|---|---|---|
| Sérum | 3.46 | 3.38 | 0,05 | *p. i.* 5,2 |
| U F | 3.43 | 3.13 | 0,05 | |

2) We... Coma diabétique.
Glucosurie — 9% Coma diabétique — Respiration de Kussmaul.
Glycémie: 5 g ‰ Urée 0,38 ‰

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cl s | 2.84 | Na s | 3 41 | |
| U F | 2.86 | U F | 3.19 | *p. i.* 5,2 |

3) Heb... Coma diabétique profond.
IR. 68 R. A. 25
Acétonémie 0.20‰ Glycémie 4‰ Glucosurie 6%

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| IR 62 | R. A 6 | Cl | Na | |
| | | S 3.0 | 3.33 | *p. i.* 5,2 |
| | | U F 3.0 | 3.10 | |

Ainsi donc dans aucun cas d'acidose diabétique, légère ou forte, le chlore n'est combiné aux protéïnes. L'acidose diabétique est due uniquement à l'accumulation d'acide dans le sang, sans que ni la constitution des protéïnes ni l'état physique des ions ne diffèrent en quoi que ce soit de la normale. L'hypochlorémie plasmatique n'est donc pas un signe de chargement des protéïnes en HCl *(Ambard)*.

*Leucémie.* Nous avons étudié deux cas et nous avons trouvé une modification des protéïnes. On a depuis longtemps formule l'hypothèse d'un changement de la nature des protéïnes dans la leucémie; le nombre de nos cas est trop restreint pour que nous puissions en tirer aucune conclusion.

Enfin dans un cas d'albumosurie nous avons trouvé une modification des protéines.

| | pH 7,3 | |
|---|---|---|
| Cl Sérum | 3.70 | Na s 3.44 |
| U F | 3.52 | U F 3.15 |

## Conclusions.

I. Dans le sérum normal et dans un certain nombre de sérums pathologiques (50 sur 123 cas) les protéines ont une composition stable. Le point iso-électrique des protéïnes se trouve aux environs de pH 5; celui de la globuline entre pH 5 et 6, celui de la sérum-albumine à pH 4,7. Les protéïnes existent par conséquent dans le sérum dont le pH varie physiologiquement entre 7,8 et 6,8 sous forme de protéïnates métalliques. La combinaison des protéïnes avec les bases suit les lois établiés par *Van Slyke* d'après lesquelles la proportion des cations combinés est fonction linéaire du pH.

Nous avons employé le procédé de l'ultrafiltration pour caractériser les protéïnes; nous employons un appareil personnel et nous exposons notre technique.

Normalement le sodium est retenu à l'intérieur de l'ultrafiltre dans une proportion de 12%; le calcium dans une proportion de 40 à 60%. Le chlore est complètement filtrable.

II. Dans un certain nombre de cas pathologiques (65 cas sur 123) nous trouvons une modification des protéines du sérum. Cette modification se caractérise par un déplacement du p. i.; la réaction des protéines s'en trouve modifiée. Les p. i. des protéines modifiées s'étalent sur toute une zône allant de pH 7,8 au p. i. des protéines normales.

Par suite les protéïnes modifiées se rencontrent dans le sérum sous 4 formes:

a) sel acide de protéïne; le pH du sérum est acide par rapport au p. i. de cette protéïne. Le chlore est retenu dans une proportion de *10 à 20% en moyenne; le sodium et le calcium sont entièrement ultrafiltrables.*

b) Protéïne iso-électrique avec le pH du sérum. *Le chlore, le sodium et le calcium sont entièrement ultrafiltrable. En produisant, par administration de sels acides un abaissement de la réserve alcaline, et partant, un déplacement tant soit peu léger du pH du sérum vers les pH forts on peut observer la fixation de chlore par ces protéïnes alors que le sodium et le calcium restent entièrement ultrafiltrables.*

c) Protéïnate métallique avec déplacement du p. i. vers les pH faibles. Une acidification progressive du sérum avec alcalinisation ultérieure *permet de déterminer un point situé entre pH 5,5 et pH 7.3 où le chlore, le sodium et les calcium sont entièrement ultrafiltrables.*

d) Coexistence dans le sérum de sels acides, de protéine et de protéinates métalliques. *Le chlore, le sodium et le calcium sont si*

*multanément retenus. Le p. i. de la sérumalbumine et de la globuline est décalé vers le pH physiologique du sérum. Cette observation tend à infirmer la conception qui voit dans la sérumalbumine et la globuline des corps chimiquement définis.*

III. La modification des protéines est indépendante du déséquilibre acide — base; on rencontre aussi bien une protéine normale avec une R. A. de 6 qu'une protéine profondément modifiée avec une R. A. de 55 voire même de 60. Les protéines ne sont pas davantage modifiées par la dilution du sérum; l'hydrémie produit in vitro n'influence en rien la constitution des protéines. Dans tous les cas d'oedème mécanique les protéines ont été trouvés normales. La réaction du milieu ne constitue pas non plus un facteur déterminant la modification des protéines.

*La modification des protéines apparaît au contraire comme un trouble primaire due à l'action directe de l'agent pathogène.* Le mécanisme de cette action est inconnue à l'heure actuelle.

IV. La modification des protéines persiste aussi longtemps que dure l'état morbide.

V. La modification des protéines se rencontre régulièrement en clinique dans la cirrhose hépatique, dans la néphrite hydropygène et dans l'urémie. Elle semble constante dans la syphilis, le cancer, et la tuberculose avancée. Nos observations sont en nombre insuffisant pour permettre une conclusion définitive à ce sujet. Il sera intéressant de rechercher la modification des protéines dans les cas de pneumonie et de bronchopneumonie, dans un but pronostique.

VI. Nous n'avons jamais rencontré de modification des protéines dans les oedèmes mécaniques de quelque nature qu'ils soient: Les protéines ont été trouvées normales dans tous les cas de coma diabétique, contrairement à l'opinion émise par certains auteurs

VII. La réaction des protéines du sérum avec les anions et les cations suit les lois établies par *J. Læb.* Notre travail constitue donc une contribution modeste à l'appui de la théorie de *Læb.*

Cette étude constitue un travail d'approche dont le but consistait à établir l'existence de modifications des protéïnes sanguines et d'étudier le sens général de leur réaction.

Des recherches plus nombreuses, l'emploi de méthodes plus précises pour la détermination du pH seront nécessaires pour l'analyse détaillée de la nature des modifications observées, leur intérêt biologique etant évident.

Vu le Président du Jury G. SCHAEFER.

Vu le Doyen de la Faculté de Médecine ANCEL.

Vu le Recteur d'Académie Ch. PFISTER.

# BIBLIOGRAPHIE.

## ABRÉVIATIONS

Annales de Médecine = Ann. Méd.
Archives de Physique-Biologique = Arch Phys.-Biol
Biochemische Zeitschrift = B. Z.
Bulletin de la Société de Biologie = Bull. Soc. Biol.
Comptes Rendus de l'Académie des Sciences = C. R. A. S.
Comptes Rendus de la Société de Biologie = C. R. S. B.
Ergebnisse der Physiologie = Erg. Phys.
Klinische Wochenschrift = K. W.


1. *Abrami P.* et *R. Wallich:* Modification du Sérum sanguin au cours des cirrhoses du foie avec ascite. C. R. S. B. T. 100. 25 mai 1929.
2. *Achard Ch.:* Troubles des échanges nutritifs. 2 vol. 1220 p. 168 fig. Masson Paris 1926.
3. *Achard Ch. :* Aperçu de la Physiologie et de la Pathologie générale du système lacunaire. 226 p. 29 fig. Paris 1924.
4. *Ambard L.* et *F. Schmid:* Variations des points isoélectriques des albumines en rapport avec les symptômes morbides généraux. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris No 12 p. 604—609 — 1928.
5. — Les variations du point isoélectrique en rapport vace les syndromes morbides et les phénomènes physiologiques en général. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris No 12 p. 609—615 — 1928.
6. *Augsberger:* Beitrag zur Technik der Ultrafiltration. B. Z. *T. 196* p. 276—288 — 1928
7. *Augsberger :* Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Erg. d. Phys. *T. 24* p. 618—647 — 1925.
8. *Bayne Jones* and *Wright Wilson:* Immunological reaction of Bence Jones protéines I. Differents between B. J. protéines and human serum protéines. Bull. of the J Hopkins Hospital *T. 33* No 372 p. 37—43 1922.
9. *Bechhold H.:* Ultrafiltration. B. Z. *T. 6* p. 379—408 — 1907.
10. *Bechhold H.:* Kolloidstudien und Filtrationsmethode. Ztschr. f. physik. Chemie *T. 60* p. 257—318 — 1907.
11. *Bechhold H.* u. *K. Silbereisen:* Herstellung weitporiger Filter. B. Z. *T. 199* p. 1—7 — 1928.
12. *Bechhold H.:* Albumin-Metallalze. B. Z. *T. 200* p. 166—175 — 1918.
13. *Beckmann K.:* Leber und Mineralhaushalt. K. W. *T. 9* p. 49—51 No 2 — janvier 1930.

14. *Berencsy G.:* Ueber die Veränderung des Kalium-Calciumquotienten im Serum unter Einwirkung von Calcium bezw. Parathyroidea.
K. W. *T. 8* p. 2379—2380 No 51 — déc. 1929.

15. *Berencsy G.:* Ueber die Veränderung de Kalium- und Calciumgehaltes des Liquor cerebro spinalis unter Parathyreoideawirkung. «Parathyreogene Wirkung.» K. W. *T. 8* p. 2428—29 No 52 — déc. 1929.

16. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* Modification du sang dans le choc séroanaphylactique du lapin.
C. R. S. B. *T. 91* p. 1290 — 1924.

17. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* Relation entre l'acidose et l'état du Calcium du Plasma.
C. R. S. B. *T. 91* p. 1291 — 1924.

18. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* Action du gaz carbonique in vitro sur le Calcium ultrafiltrable dans le Plasma.
C. R. S. B. *T. 91* p. 1292 — 1924

19. *Blum L.* et *M. Delaville:* L'étude des modification du sang et des humeurs par l'ultrafiltration.
C. R. A. Sc. *T. 180* p. 764—765 — 1925.

20. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* Modification de la composition du Plasma sanguin au cours de la maladie du sérum et du choc anaphylactique. C. R. S. B. *T. 91* p. 1287 —1288 — 1924.

21. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* La composition du sang dans la rétention chlorée sèche.
C. R. S. B. *T. 93* p. 283—284 — 1925.

22. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* La rétention chlorée hydropigène. C. R. S. B. *T. 93* p. 285—286 — 1925.

23. *Blum L.* et *C. van Caulaert:* Sur les rapports entre le Chlore, le Sodium et l'eau. C. R. S. B. *T. 93* p. 287—288 — 1925.

24. *Blum L.* et *M. Delaville:* Recherches sur le mécanisme de l'acidose.
C. R. S. B. *T. 93* p. 289—292 — 1925.

25. *Blum L., M. Delaville* et *R. Thiers:* Sur les modifications du sang dans l'acidose diabétique. L'état du chlore.
C. R. S. B. *T. 93* p. 293 — 1925.

26. *Blum L., M. Delaville* et *R. Thiers:* L'état du Sodium.
C. R. S. B. *T. 93* p. 294 — 1925.

27. *Blum L., M. Delaville* et *R. Thiers:* L'état physique du chlore et du sodium au cours de quelques états pathologiques.
C. R. S. B. *T. 93* p. 295—297 — 1925.

28. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* L'acidose des brightiques.
C. R. S. B. *T. 93* p. 698—700 — 1925.

29. *Blum L., M. Delaville* et *C. van Caulaert:* Modification de la composition du Plasma sanguin au cours de la maladie du sérum et du choc anaphylactique. C. R. S. B. *T. 91* p. 1287—1288 — 1924.

30. *Brull L.:* Réalisation de l'ultrafiltration in vivo.
C. R. S. B. *T. 99* p. 1605—1606 — 1928.

31. *Brull L.:* L'ultrafiltration in vivo.
C. R. S. B. *T. 99* p. 1607—1608 — 1928.

32. *Budoy L.:* Bestimmungen der Chloride im Harn und im Blut.
B. Z. *T. 200* p. 166—175 — 1928.

33. *Cantarow A.:* Calcium studies.
IV. The calcium content of cerebrospinal fluid.
V. The relationschip between the calcium content of cerebrospinal fluid and blood serum.
Archives of Internat. Médecine *T. 44* No 5 p. 667—675 — 1925.

34. *van Caulaert C.:* Etudes sur les rétentions chlorurées sèches.
Thèse Strasbourg. 81 pages — 1925.

35. *van Caulaert C.:* Les lois du sang.
P. M. 38e année No 36 p. 601—604 — mai 1930.

36. *Clark W. M.:* The determination of Hydrogen Ions.
2e éd. 480 p. — Baltimore 1922.

37. *Creveld S.:* Ueber die Chlorverteilung im Blute.
B. Z. *T. 123* p. 304—314 — 1921.

38. *Coulon A. de, Nicod* et *F. Vlès:* Recherches sur les points isoélectriques du sérum de lapin en relation avec le développement des cancers du goudron. Arch. Phys. Biol. *T. 5* p. 245—263 — 1926 et 1927.

39. *Coutière:* Ions hydrogène et physiologie générale. Biologie Médicale.
*T. 14* No 8 p. 387—409 — 1924.
*T. 14* No 9 p. 413—452 — 1924.

40. *Dautrebande L.:* Rapport sur l'acidose.
XVIIIe Congrès français de Médecine p. 3—117 Masson Paris 1925.

41. *Delaville M.* et *M. Richter Quittner:* Sur l'état physique du sucre du sang. C. R. S. B. *T. 91* p. 595—596 — 1924.

42. *Delaville M.* et *P. Tscherniakofsky:* Le chlore sanguin au cours des divers syndromes neuro-psychiatriques.
C. R. S. B. *T. 100* p. 342 No 5 — février 1929.

43. *Deseö D. V.:* Vergleichende Eiweissbestimmungen im Pferdeserum.
B. Z. *T. 200* p. 126—134 — 1928.

44. *Fischer Anton:* Ueber die chemischen Grundlagen und die klinische Bedeutung der Eiweissdifferenzierung im Blutserum.
K. W. *T. 8* No 50 p. 2328—2330 — déc. 1929.

45. *Fischer M. H.:* Das Ödem trad. allde. Schorr et Ostwald.
222 p. Steinkopf Dresden 1910.

46. *Fischer R.:* Eléments modifiant l'équilibre colloïdal du sérum sanguin.
C. R. S. B. *T. 88* p. 242—244 — 1923.

47. *Fischer R.:* Examen électrocolloïdal du sérum humain.
id. *T.* 88 p. 558—559 — 1912

48. *Fischer R.:* Electrophorèse du sérum chez les bœufs.
id. *T 88* p. 662—664 — 1923.

49. *Fischer R.:* Electrophorèse du sérum et sens de la migration du complexe globuline — albumine.
id. *T. 88* p. 1251—1253 — 1923.

50. *Filuski W.:* L'augmentation du taux de la globuline dans le sérum comme résultat de l'insuffisance hepatique.
P. M. *T. 30* p. 236—237 — 1922.

51 *Freudenberg E.* und *P. Györgi:* Ueber Kalkbildung der tierischen Gewebe. IV. Mitteilung B. Z. *T. 129* p. 135—137 — 1922.

52. *Genaud P.:* Statique et dynamique de l'eau dans l'organisme.
Thèse Bordeaux 110 p. — 1928.

53. *Giemsa G.:* Ultrafiltration protéinhaltiger Salze.
B. Z. *T. 132* p. 48—493 — 1922.

54. *Giemsa G.:* Ultrafiltration protéinhaltiger Sole.
B. Z. *T. 144* p. 278—284 — 1924.

55. *Grabar P.:* Mikrométhode de dosage du Sodium dans les milieux biologiques: humeurs et tissus.
Bull. de la Soc. de Biologie *T. 11* p. 58—64 — 1929.

56. *Grabar P.:* Méthode rapide de dosage du chlore. Application au dosage des chlorures sanguins.
C. R. S. B. *T. 102* p. 27 — juillet 1929.

57. *Gorter E., Greadel F.:* Die Eiweissausbreitung als Methode zur Bestimmung von Serumalbumin und Serumglobulin.
B. Z. *T. 201* p. 391—411 — 1928.

58. *Haan (J. de)* et *v. Creveld:* Ueber die Wechselbestimmung zwischen Blutplasma und Gewebsflüssigkeiten, insbesondere Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit.
I. Der Zuckergehalt und die Frage des gebundenen Zuckers.
B. Z. *T. 123* p. 190—214 — 1927.
II. Durchlässigkeit für Fluorescin und Jodsalze
B. Z. *T. 124* p. 172—184 — 1926.

59. *Handowski H.:* Leitfaden der Kolloidchemie.
206 p. 33 figures, 28 tables. Dresden und Leipzig 1922.

60. *Henseval M.:* Sur l'ultrafiltration du sérum antidiphtérique.
C. R. S. B. *T. 82* p. 913—915 1919.

61. *Henseval M.:* Sur la dissémination de la sérumalbumine et de la sérumglobuline dans les solutions aqueuses.
C. R. S. B. *T. 82* p. 907—909 — 1919.

62. *Henriques O. M.:* Bindungsweise des Kohlendioxyds im Blute. IV u. V.
B. Z. *T. 200* p. 1—24 — 1928.

63. *Hertz W.:* Die Verteilung des Kalkes im Blute.
B. Z. *T. 217* p. 336—345 — 1930.

64. *Hirth et Tschimber:* Technique de l'ultrafiltration du plasma. Détermination du PH et du Ca, Mg, Na et P. dans l'ultrafiltration.
C. R. S. B. *T. 91* p. 592—93 — 1924.

65. *Höber R.:* Physikaliche Chimie des Zelle u. der Gewebe
544 p. Engelmann Leipzig 1922.

66. *Keller R.:* Molekule und Ionen im Plasma.
B. Z. *T. 95* p. 14—19 — 1928.

67. *Klinke K.:* Zustand des Ca in den Körperflüssigkeiten.
B. Z. *T. 213* p. 175—189 — 1929.

68. *Koechig Irène:* The Calcium Content of the Blood in Pathologic Conditions.
The Journal of Laboratory and Clinical Médicine.
*T. 9.* p. 1—8 No 10 — July 1924.

69. *Kolthoff J. M.:* La détermination colorimétrique de la concentration des ions hydrogènes. 3e éd. trad. E. Vellinger 250 p. Gauthier Villars Paris 1926.

70. *Kopaczewski N.:* Théorie et pratique des colloïdes.
308 p. 112 fig. Vigot Paris 1923.

71. *Lash Grete* und *Reistotter:* Zur physikal. chem. Kennzeichnung von normalem und pathol. verändertem Serum.
B. Z. *T. 190 p. 84 — 1927.*

72. *Lapique L.:* Les échanges de liquide. Cours de la Faculté des Sciences de Paris, Gauthier-Villars — 1926.

73. *Legendre R.:* La concentration en ions hydrogène de l'eau de mer. Le PH.
291 p. 31 fig. Presses Universitaires de France. Paris 1925.

74. *Loeb J.:* Les protéines. Trad. H. Mouton.
243 p. 52 fig. F. Alcan, Paris 1924.

75. *Loeb J.:* La théorie des phénomènes colloïdaux. Trad. H. Mouton.
292 p. 58 fig. F. Alcan, Paris 1924.

76. *Malfitano:* Sur l'état de la matière colloïdale.
C. R. Ac. Sc. *T. 139* p. 920—922 — 1904.

77. *Muresame A.:* Ueber die Verteilung des Cl auf Blutkörperchen und Plasma bezw. Serums.
B. Z. *T. 124* p. 114—118 — 1921.

78. *Nicolau S.:* L'ultrafiltration, Bull. de l'Institut Pasteur.
*T. 23.* No 6 p. 233—243, mars 1925.

79. *Nitschke A.:* Ueber die Zustandsform des Calcium im Serum.
B. Z. *T. 192* p. 123—127 — 1928.

80. *Osato S.:* Der isoelektrische Punkt des Globins.
B. Z. 132 p. 484—487 — 1922.

81. *Pauli Wo.:* Eiweiss Körper und Kolloide
32 p. 20 fig. Springer, Wien 1926.

82. *Pauli W.* und *Schön M.:* Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteine.
B. Z. *T. 153* p. 253—284 — 1924.

83 *Reiner L.:* Zur Kenntnis des Serum Globulin.
B. Z. *T. 191.* p. 158—174 — 1927.

84. *Richter-Quittner M.:* Zur Methodik der chemischen Blutanalyse III. Die Bedeutung der Ultrafiltrationsmethode für die Blutanalyse.
B. Z. *T. 124* p. 106—113 — 1921.

85 *Richter-Quittner M.:* Le Potassium dans l'ultrafiltration du sérum sanguin.
C. R. S. B. *T. 91* p. 594 — 1924.

86. *Richter-Quittner M.:* Sur les modifications de la composition minérale du plasma après administration de Ca Cl2 et du Mg Cl2.
C. R. S. B. *T. 91* p. 596—598 — 1924.

87. *Richter-Quittner M.:* Zur Methodik der chemischen Blutanalyse.
B. Z. *T. 158* p. 176—190 — 1925.

88. *Rona P., F. Haurowitz* und *H. Petow:* Beitrag zur Frage der Jonenverteilung im Blutserum II.
B. Z. *T. 149* p. 393—398 — 1924.

89. *Rona P.* und *Weber Th.:* Mechanismus der spezif. Ionen-Wirkung auf Eiweisskörper.
B. Z. *T. 203* p. 429—442 — 1928.

90. *Rossier P. H.:* Introduction à l'étude des points isoélectriques du sang.
Ann. Méd. *T. 23* No 4 p. avril 1928.

91. *Schorn H.:* Untersuchung von Metallsalzalbuinlösung mittels der Auswaschungsmethode.
B. Z. *T. 199* p. 459—467 — 1928.

92. *Slyke (D. D. van):* Factors affecting the distributions of electrolyses water and gases in the animal body.
62 p Philadelphia and London 1926.

93. *Slyke* (D. D. van), *H. Wu* and *F. Mc. Lean:* Studies of gas and electrolyte équilibria in the blood V. Factors controlling the electrolyte and Waterdistribution in the blood.
The Journal of Biological Chemistry *T. 79* p 769—780 — 1928.

94. *Slyke* (D. D. van), *Hastings, A. Baird, Hiller, Alma* and *Sendry Jul-Ir.:* Studies of gas and electrolyte equilibria in blood XIV. The amounts of alcali bound by serum albumin and globulin.
The Journal os Biological Chemistry *T. 79* p. 769—780 — 1928.

95. *Tschimber C.:* La calcémie dans quelques états pathologiques.
C. R. S. B. *T. 91* p. 1292-93 — 1924.

96. *Updegraff H., D. Greenberg* and *G. W. Clark:* A study of the diffusible and undiffusible calcium in the blood sera of normal animals.
The Journal of biological chemistry *T. 71* p. 87—116 — 1926.

97. *Vlès F.:* Considérations théoriques sur le point isoélectrique des ampholytes.
Arch. Phys. Biol. *T. 4* p. 228—262 — 1924/26.

98. *Vlès F. et A. de Coulon:* Recherches sur les propriétés physico-chimiques des tissus en relation avec l'état normal ou pathologique de l'organisme.
Arch. Phys. Biol. *T. 4* p. 43—85 — 1924/26.

99. *Vlès F.* et *A. de Coulon:* Sur les propriétés physico-chimiques de certains constituants du sérum.
C. R. A. S. *T. 181* p. 1189 1925.

100. *Vlès F.* et *A. de Coulon:* Recherches sur les propriétés physico-chimiques des tissus en relation avec l'état normal ou pathologique de l'organisme. (III: recherches sur le sérum humain) *T. 5* p. 161-209 - 1926/27.

101. *Vigneron H.:* Précis de chimie physique.
Masson, Paris 1924.

102. *Weber H.:* Die Bjernumsche Zwittertheorie und die Hydratation der Eiweisskörper.
B. Z. *T. 218* p. 1—27 — 1930.

103. *Weil J. A.:* La concentration en ion hydrogène, la conception du PH, la réserve alcaline: leurs aplications chimiques. Les différentes modalités du déséquilibre acido-basique du sang.
Strasbourg médical. LXXXVe année p. 1—21 — 1927.

104. *Wha Chienchi:* Beitrag zum Verhalten von Calcium, Kalium, Chlor und Phosphor in der Milch und zur Techni der Ultrafiltration.
B. Z. *T. 144* p. 278—284 — 1924.

105. *Wilenski B. A.:* Ueber Ultrafiltration als Enteiweissungsmethode für die Bestimmung des Reststickstoffs des Blutes.
B. Z. *T 204* p. 433—438 — 1929.

106. *Zsigmondy C.:* Kolloidchemie.
429 p. 7 tables. 38 fig. O. Spaener, Leipzig 1920.